АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XX. ВЫП. 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1951

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР. А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников, Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/microbiologiia_march-april-1951_20_2

СЕРГЕЙ ИВАНОВИЧ ВАВИЛОВ

24.III 1891—25.I 1951

ПАМЯТИ ВЕЛИКОГО ТРУЖЕНИКА И ОРГАНИЗАТОРА НАУКИ СЕРГЕЯ ИВАНОВИЧА ВАВИЛОВА

Советская наука понесла тяжелую утрату. В полном расцвете творческих сил скончался крупнейший ученый, выдающийся государственный и общественный деятель, неутомимый борец за передовую советскую науку, пламенный пропагандист великих идей коммунизма — Президент Академии Наук СССР, депутат Верховного Совета Союза ССР академик Сергей Иванович Вавилов.

С. И. Вавилов родился в Москве в 1891 году. В 1909 году он поступил в Московский университет, где учился и работал под руководством выдающегося русского ученого-физика П. Н. Лебедева. Еще будучи студентом, С. И. Вавилов выполнил оригинальное научное исследование «Тепловое выцветание красителей», удостоенное золотой медали Обществом любителей естествознания при Московском университете. По окончании университета в 1914 году С. И. Вавилову было предложено остаться в университете при кафедре физики, однако он отклонил это предложение и вместе с другими прогрессивными учеными ушел из университета в знак протеста против полицейских преследований передовых ученых.

С 1914 по 1918 год С. И. Вавилов находился на военной службе. За эти годы им выполнен ряд важных научных исследований в области радиофизики.

Выдающиеся дарования Сергея Ивановича, как талантливого ученого и организатора, в полной мере раскрылись после Великой Октябрьской социалистической революции, создавшей исключительно благоприятные условия для развития науки в нашей стране.

С первых дней революции С. И. Вавилов ведет большую педагогическую и научно-исследовательскую работу. Его жизнь и деятельность связаны с работой таких крупнейших научных и учебных учреждений, как Московский университет, Московское высшее техническое училище, Институт физики и биофизики, Государственный оптический институт и Физический институт имени П. Н. Лебедева Академии Наук СССР.

С. И. Вавилову принадлежит около ста научных работ, главным образом по вопросам физической оптики. Более 15 лет его упорных исследований природы фотолюминесценции растворов увенчались большими научными открытиями в этой малоразработанной области физики и позволили создать общую теорию явлений люминесценции.

На основании глубоких теоретических исследований С. И. Вавилова и под его непосредственным руководством разработана технология производства ламп так называемого дневного, или холодного, света, имеющих значительные экономические и светотехнические преимущества перед лампами накаливания.

По инициативе С. И. Вавилова в химии, медицине, минералогии, в пищевой, металлообрабатывающей и других отраслях промышленности получил широкое внедрение новый метод анализа вещества — люминесцентный анализ.

Особо важное научное и практическое значение имеет выдающееся открытие С. И. Вавилова и его учеников в области изучения свойств электронов при движении их в веществе со сверхсветовой скоростью. За эти выдающиеся труды Сергей Иванович был дважды удостоен Сталинской премии.

Признанием больших заслуг Сергея Ивановича перед советской наукой явилось избрание его в 1931 году членом-корреспондентом и в 1932 году — действительным членом Академии Наук СССР. Человек большой и разносторонней культуры, Сергей Иванович уделял огромное внимание общим вопросам истории и методологии науки. Многие его работы посвящены вопросам философии естествознания, где он творчески применял великое всепобеждающее учение Ленина — Сталина и показал, что достижения передовой современной науки подтверждают законы диалектического материализма и опровергают идеалистические измышления буржуазных философов и физиков. Горячий патриот Советской Родины, С. И. Вавилов последовательно боролся за приоритет отечественной науки и признание того великого вклада, который внесли ученые нашей Родины в сокровищницу мировой науки и культуры.

В годы Великой отечественной войны, будучи уполномоченным Государственного Комитета Обороны СССР, С. И. Вавилов отдавал свои силы делу разгрома врага.

В 1945 году Сергей Иванович Вавилов был избран Президентом Академии Наук СССР. На посту Президента Академии Наук он проявил себя талантливым организатором, неутомимым борцом за осуществление великих задач, поставленных партией и Советским правительством перед учеными нашей страны.

Все свои силы Сергей Иванович отдал делу развития передовой советской науки.

Он был непримиримым борцом за все новое и передовое в науке, против косности и рутины, начетничества и талмудизма. Во всей своей деятельности С. И. Вавилов руководствовался мудрыми указаниями товарища Сталина о развитии советской науки, «той науки, которая не отгораживается от народа, не держит себя вдали от народа, а готова служить народу, готова передать народу все завоевания науки, которая обслуживает народ не по принуждению, а добровольно, с охотой».

Научные учреждения Академии Наук СССР, руководимой Сергеем Ивановичем, достигли значительных успехов в выполнении исторической задачи, поставленной товарищем Сталиным перед советскими учеными,— не только догнать, но и превзойти в ближайшее время достижения науки за пределами нашей страны.

С. И. Вавилов уделял большое внимание планированию советской науки и внедрению научных достижений в народное хозяйство. Воодушевленный решениями партии и правительства о строительстве гигантских гидротехнических сооружений коммунизма, Сергей Иванович возглавлял работу ученых по оказанию помощи великим сталинским стройкам.

Сергей Иванович неуклонно проводил в жизнь указания товарища Сталина о приобщении к науке широчайших народных масс. Выполняя большие государственные и научные обязанности, С. И. Вавилов стоял во главе массового движения советских ученых по распространению политических и научных знаний среди трудящихся. Сергей Иванович сам являлся талантливым популяризатором науки. Его произведения «О теплом и холодном свете», «Глаз и солнце» и многие другие представляют образцы популяризации современных достижений науки.

В течение многих лет он возглавлял Комиссию Академии Наук по изданию научно-популярной литературы, являлся главным редактором научно-популярного журнала «Природа», редактировал большое число изданий для народа.

С. И. Вавилов являлся главным редактором нового издания Большой Советской Энциклопедии, призванного обобщать все достижения науки и культуры.

Велика и разнообразна научно-организационная деятельность, которую вел академик Вавилов. Он был Президентом Академии Наук СССР, председателем Всесоюзного общества по распространению политических и научных знаний, председателем Комитета по координации научной деятельности академий наук союзных республик. На этих ответственных постах академик Вавилов с исключительной энергией руководил организацией научной работы и подготовкой научных кадров в центре и на местах.

Широко известна деятельность С. И. Вавилова как пламенного борца за дело мира во всем мире. Беззаветное служение великому делу Ленина — Сталина, жизненным интересам советского народа снискало Сергею Ивановичу глубокое уважение и любовь трудящихся нашей страны. Начиная с 1935 года С. И. Вавилов был депутатом многих созывов Ленинградского и Московского Советов, депутатом Верховного Совета РСФСР и Верховного Совета СССР.

Советское правительство высоко оценило выдающиеся заслуги академика Вавилова перед Родиной. Сергей Иванович был дважды награжден орденом Ленина, орденом Трудового Красного Знамени и медалями Советского Союза.

Советский народ будет свято чтить светлую память о Сергее Ивановиче Вавилове, выдающемся ученом и патриоте нашей Родины, отдавшем все свои силы и знания великому делу строительства коммунизма в СССР.

Академия Наук СССР

ОТ РЕДАКЦИИ

Советская наука — самая передовая наука в мире. Она успешно развивается и преуспевает потому, что руководствуется всепобеждающим учением Маркса — Энгельса — Ленина — Сталина.

О росте и процветании нашей науки неустанно заботится вождь и учитель советского народа товарищ Сталин.

Товарищ Сталин определил один из основных принципов развития нашей науки, заключающийся в том, что «никакая наука не может развиваться и преуспевать без борьбы мнений, без свободы критики» [1]. Это сталинское указание выражает одну из существенных черт развития нашей науки.

Успешное развитие науки возможно только при условии критической переработки устаревших теоретических положений, решительного отбрасывания вредных, ошибочных взглядов и преодоления влияния буржуазной идеологии. Ни одна отрасль науки не может успешно развиваться, если не обеспечена всесторонняя критика научной работы, если не обеспечено развитие передовых идей и устранение устаревших, отживших воззрений, тормозящих продвижение науки вперед.

Сила марксистско-ленинской теории заключается в конкретно-историческом подходе к каждому явлению природы и общества. «Марксизм,— указывает товарищ Сталин,— как наука, не может стоять на одном месте,— он развивается и совершенствуется. В своем развитии марксизм не может не обогащаться новым опытом, новыми знаниями,— следовательно, отдельные его формулы и выводы не могут не изменяться с течением времени, не могут не заменяться новыми формулами и выводами, соответствующими новым историческим задачам. Марксизм не признает неизменных выводов и формул, обязательных для всех эпох и периодов. Марксизм является врагом всякого догматизма» [2].

Передовая, мичуринская наука, тесно связанная с практикой строительства коммунизма, опираясь на диалектико-материалистический метод, систематически отвергает устаревшие положения, выявляет новые закономерности развития организмов и этим открывает перед нашей биологической наукой новые, широкие перспективы для дальнейшего продвижения вперед. Во всех областях знаний имеются вопросы, требующие критического обсуждения.

Не мало таких вопросов и в области общей и прикладной микробиологии. К ним относятся: проблема вида и видообразования у микроорганизмов; неклеточные формы существования микроорганизмов; принципы селекции микроорганизмов; выяснение роли микроорганизмов в питании высших растений; проблема дыхания и брожения и ряд других.

В настоящем номере журнала «Микробиология» публикуется в качестве дискуссионной статья В. И. Кудрявцева «О непрерывной селекции микроорганизмов из производства». Этой статьей Редколлегия открывает дискуссию по вопросу о принципах селекции микроорганизмов.

Редколлегия обращается с просьбой ко всем микробиологам и ко всем работающим непосредственно в области селекции микробов или интересующимся этой проблемой выступить на страницах журнала со своими соображениями по данному вопросу и критическими замечаниями как по поводу статьи В. И. Кудрявцева, так и статей, которые будут публиковаться в журнале в связи с дискуссией.

---

[1] И. В. Сталин. Марксизм и вопросы языкознания. Изд. «Правда», стр. 26, 1950.
[2] Там же, стр. 48.

СУДЬБА МЕРТВОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В ЧЕРНОМ МОРЕ

А. Е. Крисс, Е. А. Рукина и *В. И. Бирюзова*

Существует мнение, что «в прибрежной зоне Черного моря не только продуцируется основная масса органического вещества, но если не все, то почти все это вещество участвует в процессе круговорота, в то время как на огромных пространствах открытого моря значительная часть органического вещества, опускаясь в бескислородную зону, остается неминерализованной или минерализованной частично и выходит из цикла» (Никитин [19], стр. 190) (подчеркнуто нами.— *А. К., Е. Р.* и *В. Б.*).

Для оценки размеров и динамики биологического продуцирования в толще воды кислородной зоны Черного моря значение высказанного в этой цитате очень велико. Автор, являясь апологетом теории о низкой продуктивности Черного моря, за исключением лишь его прибрежной зоны, полагает, что причина этой низкой продуктивности лежит в выпадении в открытой части моря из круговорота биогенных элементов значительной массы органического вещества, остающегося неминерализованным при опускании в сероводородную зону.

Какие же доказательства существуют в пользу того, что мертвое органическое вещество, погружаясь из верхних слоев моря в глубины сероводородной области, сохраняется на дне моря неминерализованным и что этим обусловливается непрерывный процесс обеднения кислородной зоны биогенными элементами, необходимыми для развития жизни?

Эти доказательства можно найти в другой статье, где указывается: «Организмы, составляющие население пелагической области Черного моря, непрерывно отмирая в огромных количествах, попадают в анаэробные глубины, где они только отчасти подвергаются процессам минерализации, а остальная часть их остается погребенной в донных отложениях моря, что подтверждается данными А. Д. Архангельского [7] и М. И. Равича [8] о количестве органического вещества в грунтах Черного моря» (Никитин [18], стр. 345).

Воспользовавшись этими ссылками на работы о содержании органического вещества в илах Черного моря, мы легко обнаружили, что цифры, выражающие процентное содержание органического углерода в глубоководных отложениях данного моря, не дают основания для заключения о консервации органического вещества на дне сероводородной области Черного моря. Данные, которые имел в виду Никитин в работе Архангельского и Копченовой [2] о содержании в осадках Черного моря до 20% органического углерода, относятся к древнечерноморскому бассейну. Что же касается современных отложений в центральной котловине Черного моря, то, по данным Архангельского и Страхова [3], процент органического углерода в поверхностных горизонтах илов Черного моря колеблется в пределах от 1,74 для глубоководной серой глины и 2,51 для глубоководного глинисто-известкового ила до 4,54 для глубоководного известкового ила. Аналогичные сведения приводятся Равичем [21]. В поверхностных слоях илов Черного моря с глубин около 2000 м им определено от 1,05 до 3,12% органического углерода.

Таким образом, по данным химических определений органического вещества в глубоководных осадках Черного моря нельзя сделать вывод о том, что в современную нам эпоху отсутствуют процессы минерализации органического вещества на дне сероводородной области Черного моря и что огромная масса органического материала, опускающаяся из верхних слоев, в большей своей части остается погребенной в донных отложениях. Приведенные цифры не намного превышают данные, относящиеся к другим морям, например для хорошо аэрируемого Баренцова моря, где количество органического углерода составляет 0,15—3,12% (Горшкова [6]). Несколько повышенное процентное содержание органического углерода в глубоководном известковом иле Черного моря объясняется Страховым [24] заносом в эту область дна уменьшенной порции обломочных частиц, что приводит к более слабому разбавлению ими органического материала и к увеличению удельного веса последнего в общей массе натурального осадка.

Хотя и существует мнение Теодоровича [25] и ряда других геологов, что сероводородное заражение вод играет заметную роль в накоплении органического вещества в осадках водоемов, Страхов [24, стр. 118] заключает, что «ни по пределам колебаний органического углерода, ни по средним значениям его черноморские илы не отличаются сколько-нибудь отчетливо и резко от гемипелагических осадков моря с нормальным газовым режимом».

Нам казалось небезынтересным попытаться дать с микробиологической стороны освещение вопросу о судьбе мертвого органического вещества в глубинах Черного моря, т. е. выяснить, насколько основательны утверждения о консервирующем влиянии сероводорода на микробиологические процессы разложения органического вещества, достигшего дна центральной котловины из верхних слоев моря. С этой целью в постановке соответствующих исследований были намечены следующие пути в методическом отношении: во-первых, увидеть характер изменений трупов животных и растений по мере опускания их в глубинах сероводородной области Черного моря, а также и в грунтах; во-вторых, оценить активность в глубоководных слоях Черного моря и на дне его тех физиологических групп микроорганизмов, которые в своей жизнедеятельности осуществляют процессы трансформации органических соединений.

Настоящая статья кратко излагает основные результаты изучения материалов, собранных на протяжении трех лет во время глубоководных экспедиций на Черном море, для решения поставленной задачи.

«Дождь трупов» в Черном море

Вопреки распространенному мнению о том, что вся масса нанно-планктонных организмов, населяющая верхние горизонты моря, после смерти распадается в поверхностных слоях воды и на глубинах встречаются лишь остатки их в виде трудноподдающихся разложению оболочек или раковин, мы после наших исследований пришли к другому заключению.

Обычно исследователи, интересовавшиеся в той или иной мере вопросом о так называемом «дожде трупов», высказывали свое суждение, основываясь на изучении содержимого стаканчика планктонной сети, с помощью которой производился лов планктонных организмов из слоев воды соответствующей глубины. Материалом для исследований в этих случаях являлись растительные и животные экземпляры, задержавшиеся в планктонной сети благодаря своим относительно крупным размерам. Нами впервые был применен фильтрационный метод для непосредственного рассмотрения на просветленной мембране фильтра планктонных организмов, встречающихся на больших глубинах моря, что позволило сделать ряд интересных наблюдений.

Интерес проведенных наблюдений определяется тем обстоятельством, что в Черном море резко выражена стратификация в распределении жизни. В силу заполнения глубин моря сероводородом «живой» слой моря имеет сравнительно небольшую толщину, около 200 м. Основная масса воды, находящаяся глубже и составляющая в центральных районах Черного моря слой около 2000 м, не содержит иных форм жизни, кроме микроорганизмов. Следовательно, по мере того, как мы опускали батометры на все бо́льшие и бо́льшие глубины, они приносили нам пробы воды, соответственно удаленные от нижней границы фито- и зоопланктона в Черном море.

Нами исследовалось содержание планктонных организмов и их остатков в пробах воды с глубин 0, 5, 10, 25, 37, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 300, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750 и 2000 м, а также в илах. Пробы воды извлекались с соответствующей глубины батометром Кнудсена и тотчас же фильтровались в первых опытах в количестве 8 мл через мембранные ультрафильтры, изготавливаемые на фабрике мембранных ультрафильтров для санитарно-бактериологического анализа, а в последующих — в количестве 50 мл через мембранные ультрафильтры собственного изготовления. Фильтрация производилась в лаборатории, устроенной на судне, в приборе Разумова, который, в отличие от воронок Зейтца, имеет полезную (фильтрующую) поверхность в 1 см диаметром. Вакуум создавался с помощью ручного насоса Комовского.

После окончания фильтрации фильтр с осевшими на его поверхности взвешенными частицами из содержимого исследуемой пробы переносился на фильтровальную бумагу в чашку Петри, где окрашивался 1%-ным раствором эритрозина в 5%-ной карболовой кислоте. Продолжительность контакта фильтра с краской составляла 3 часа, после чего избыток краски удалялся путем накладывания фильтра тыльной стороной последовательно на ряд полосок фильтровальной бумаги, смоченной дестиллированной водой. Высушенный затем фильтр помещался на предметное стекло в каплю канадского бальзама и закрывался покровным стеклом. Сделанные таким образом препараты просматривались в микроскопе при увеличениях в 600 раз. При этом не только зарисовывались различающиеся по своему виду остатки растительных и животных организмов, но и подсчитывалось их число, что позволило составить представление о концентрации этих остатков на различных глубинах водной толщи Черного моря.

По рис. 1 можно судить о картинах, открывшихся перед нашим взором, когда мы рассматривали препараты из проб воды с различных глубин кислородной и сероводородной зон Черного моря. Этот рисунок запечатлел лишь разнообразие всего обнаруженного на разных горизонтах, на нем не отмечена частота встречаемости каждой формы. Представление о количестве встреченных остатков животных и растений, опускающихся на дно, дает табл. 1, в которой помещены данные подсчета этих остатков на одной из глубоководных станций в вертикальном разрезе.

Как видно из табл. 1, в литре воды из поверхностных слоев, по данным счета на мембранных фильтрах, число планктонных организмов и их остатков исчисляется тысячами и лишь на отдельных горизонтах превышает 10 тыс. Примерно это соответствует тем цифрам, которые получены Морозовой-Водяницкой [17] для фитопланктона на станциях в том же районе моря при исследовании батометрических проб с помощью осадочного метода.

Рис. 1. «Дождь трупов» в Черном море. Буквами обозначены планктонные формы, встречающиеся на различных горизонтах водной толщи. Волнистая линия — верхняя граница сероводорода (ув. × 160—300).

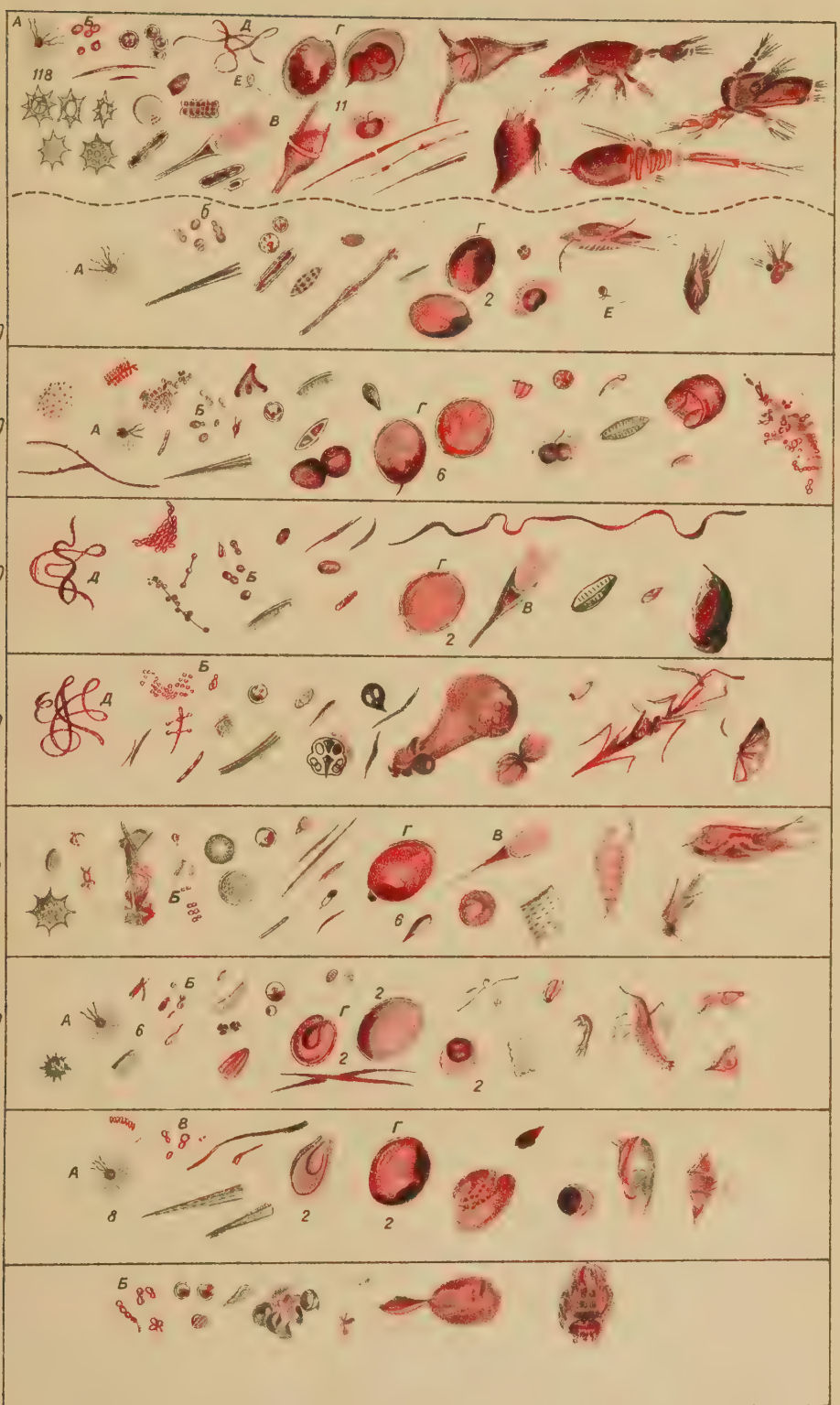

0
125
300
500
750
1000
1250
1500
1750
2000
Глубина в метрах
А
Б
В
Г
Д
Е
118
11
2
6
8

Таблица 1

Количественное распределение планктонных организмов и их остатков на различных глубинах водной толщи Черного моря

(В пересчете на 1 л воды)

Глубина в м	Количество организмов и их остатков	Глубина в м	Количество организмов и их остатков
1	10 280	200	280
5	14 040	225	400
10	8 480	250	640
25	15 200	300	1 880
37	6 160	500	240
50	6 800	750	440
75	3 440		
100	960	1 250	680
125	360	1 500	320
150	280	1 750	400
175	480		

Начиная с глубины 100 м, количество планктонных организмов или их остатков уменьшается в 10—15 раз; на всех нижележащих горизонтах кислородной и сероводородной зон, за некоторыми исключениями, они насчитывались в сотнях. Судя по полученным данным, возможно, что в сероводородной области на больших глубинах концентрация их не испытывает очень больших колебаний.

Следует признать абсолютное значение приведенных цифр высоким: поражает обилие остатков планктонных организмов в глубоководных слоях Черного моря. Это «дождь трупов» в буквальном смысле слова. Подобные картины наблюдались не на одной глубоководной станции, а на всех глубоководных станциях, располагавшихся в открытой части Черного моря на прямой линии длиной в 200 км. Становится очевидным, что глубины моря заполнены отмершими животными и растениями, находящимися в различной стадии разложения по пути следования на дно. Обилие трупов говорит против точки зрения об обедненности планктоном кислородной области открытого моря и дает очевидные доказательства в пользу обилия жизни в населенной зоне Черного моря.

Следует ли оценить этот «дождь трупов» как явление случайное, отражающее лишь какой-то максимум в развитии жизненных явлений в кислородной зоне Черного моря, обычное только для ограниченного периода времени? На этот вопрос нужно ответить отрицательно, учитывая скорость погружения отмерших планктонных организмов. Судя по размерам остатков растений и животных, большинство их, сохранивших в какой-то мере свою форму, относится к наннопланктонным организмам, что согласуется с наблюдениями Морозовой-Водяницкой [16] о преобладании наннопланктона в составе планктона Черного моря. По расчетам Скопинцева [22] падение наннопланктона с диаметром в 50 μ совершается при температуре, равной 12°, со скоростью 1,2 м в сутки. Принимая в основу вычислений эти данные, условно можно заключить, что трупы наннопланктонных организмов пройдут расстояние от нижней границы жизни в Черном море, от горизонта в 200 м до горизонта в 500 м за 250 дней, до глубины 750 м за 460 дней, до глубины 1000 м за 670 дней и т. д. Условность этих цифр очевидна, они лишь позволяют судить о том, что одновременное получение проб воды с различных глубин — от 500 и до 2000 м — дает возможность охарак-

теризовать разновременный состав населения «живого» слоя Черного моря.

Состав «дождя трупов» в Черном море разнообразен: встречаются остатки ракообразных, личинок, грибной мицелий с цепочками конидий, дрожжи, здесь и экскременты, и обломки раковин и оболочек, и многое другое неясного происхождения. Для того чтобы читатель составил себе более ясное представление, чем по рис. 1, о формах, которые наблюдались на мембранных фильтрах, часть из них запечатлена на фотографиях (рис. 2).

Следует обратить внимание на хорошую сохранность большого числа остатков планктонных организмов. Мы уже указывали выше, что окрашивали свои препараты эритрозином, и по цветному рисунку (рис. 1) легко убедиться в том, что и в таких глубоких слоях Черного моря, куда, по расчетам Скопинцева [22], наннопланктонные формы могут достигнуть лишь спустя 3—4 года после того, как они спустятся ниже кислородной зоны (например на глубинах 1500, 1750 и 2000 м), встречаются остатки организмов с отчетливо сохранившейся плазмой, окрашивающейся эритрозином. На этих горизонтах попадаются не только пустые раковины и оболочки или другие скелетные части, как предполагалось, но и формы с хорошо видимым плазменным содержимым, что дает основания к сомнениям по поводу возможности полного распада наннопланктона, не говоря уже о более крупных формах, в слое 0—100 м.

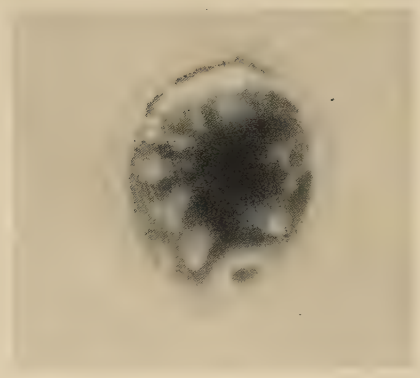
Характерно, что некоторые планктонные формы, сохранившие тот вид, какой они имеют в поверхностных слоях моря, обнаружены на больших глубинах сероводородной области. Так, например, форма, которая обозначена на рис. 1 буквой *А*,[1] а на рис. 2 буквой *Е*, встречающаяся в слое воды 0—125 м в сравнительно большом количестве — в среднем 118 экземпляров в 50 мл воды, найдена также на глубинах 500, 1500 и 1750 м, причем в слоях воды 1500 и 1750 м концентрация ее составляла 6—8 экземпляров в 50 мл воды. Форма, обозначенная на рис. 1 буквой *Г* и на рис. 2 буквой *Б*, встречалась в слоях воды 0—125 м, 125—300 м, на горизонтах 500, 750, 1250, 1500, 1750 м. Число экземпляров этой формы в глубоководных слоях лишь в 2—5 раз было меньше того, что было определено в поверхностных горизонтах. На больших глубинах выявлены также формы *В*[1] — 750 и 1250 м, *Д* — 750 и 1000 м, *Е* — 1500 м (рис. 1), мало изменившие свой вид на этих глубинах по сравнению со слоями воды кислородной зоны. И наконец, чтобы закончить примеры, следует подчеркнуть встречаемость почти на всех исследованных горизонтах дрожжей и нередко почкующихся форм: на рис. 1 они обозначены буквой *Б*. Это явление при учете своеобразия условий в сероводородной области Черного моря представляет большой интерес и является сейчас предметом специального изучения.

При анализе сделанных наблюдений невольно приходишь к мысли: если действительно верны расчеты Скопинцева [22] относительно скорости падения планктонных организмов в морской воде, то не существует ли более короткий путь попадания планктонных организмов в Черном море на большие глубины, т. е. не подтверждается ли этим самым гипотеза Водяницкого [5] об опускании поверхностных слоев воды на периферии кольцевых течений до глубины 1000 м?

Итак, в свете полученных данных отчетливо вырисовывается следующая картина. Значительная часть отмерших животных и растений в различных слоях кислородной зоны и в пограничном слое кислород-

[1] По определению Н. В. Морозовой-Водяницкой форма *А* это Meringosphaera mediterranea Lohm., а форма *В* похожа на кончики диатомовой водоросли Rhizosolenia calcar avis.

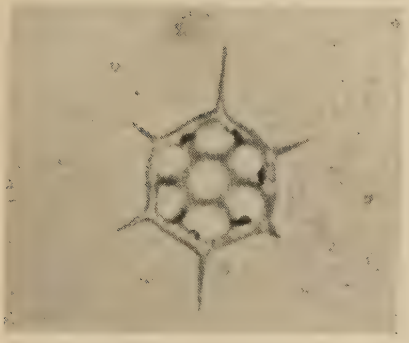
А



Б

В

Г



Д

Е

Рис. 2. Фотографии остатков обнаруженных планктонных организмов:

А — на глубине 2000 м (ув. ×500); *Б* — на глубине 1750 м (ув. ×640); *В* — на глубине 1000 м (ув. × 400); *Г* — на глубине 1250 м (ув. ×550); *Д* — на глубине 1250 м (ув. ×2000); *Е* — на глубине 1500 м (ув. × 2500)

ной и сероводородной зон (речь идет не только о крупных формах, но главным образом о представителях наннопланктона) не подвергается полному разложению в верхних слоях моря. Опускаясь на дно, многие трупы животных и остатки водорослей в хорошей сохранности достигают донных областей, судя по наличию их на фильтрах с глубины 2000 м. Особенность Черного моря в данном аспекте состоит в том, что здесь, в отличие от других морей, остатки животных и растений, опускающиеся на дно, не становятся достоянием глубоководной фауны, использующей их в пищевых целях. Они являются объектом действия только микроорганизмов, которые далеко не всё из этого взвешенного органического вещества успевают подвергнуть полному разложению до того, как оно достигнет дна.

Непрерывно идущий процесс отмирания организмов в кислородной зоне и разная скорость разложения этого неоднородного органического материала приводят к тому, что огромная толща воды сероводородной области наполнена взвешенным органическим веществом в различной стадии разложения: от заметно сохранивших свой вид экземпляров зоо- и фитопланктона до субмикроскопических бесформенных частиц. О тонком распределении усвояемых для микроорганизмов форм взвешенного и растворенного органического вещества дает представление явление микрозональности, очаговости в распространении гетеротрофных микроорганизмов в глубинах моря, о котором будет сказано в отдельном сообщении.

Казалось бы, рассматривая на фильтрах сохранившиеся в значительной мере остатки наннопланктонных организмов, извлеченных с глубин 1500, 1750, 2000 м, что даже при попадании их более быстрым путем на эти глубины с опускающимися массами воды на периферии халистатических областей,— внешний вид таких форм говорит в пользу точки зрения о консервирующем действии сероводорода в водной толще Черного моря. Но несостоятельность такого предположения уже выступает при сопоставлении числа и частоты встречаемости гетеротрофных форм микроорганизмов как аэробов, так и анаэробов в сероводородной зоне Черного моря (Крисс и Рукина [10, 11, 12]) с данными количественных определений микроорганизмов, полученных различными исследователями в других морях: никаких отличий, свидетельствующих о пониженных возможностях для развития гетеротрофов в сероводородной области Черного моря по сравнению с большими глубинами открытых районов других морей или океанов, обнаружить не удается.

Однако окончательное суждение могло быть составлено лишь на основании изучения активности микробиологических процессов разложения органического вещества на дне сероводородной зоны Черного моря.

Судьба мертвого органического вещества на дне сероводородной области Черного моря

Еще Андрусов [1], изучавший под микроскопом состав черноморских глубоководных илов, отметил, что он встречал там скелеты диатомовых, пыльцу хвойных, обломки растений, оболочки тинтинноид, иглы губок, пластинки синапт, челюсти сагитт, эмбриональные раковины моллюсков, косточки рыб. Исаченко ([7], стр. 384) нашел в илу с большой глубины — 2188 м — скорлупки, остатки древесины сосны, пыльцу сосны, а также «окрашивающиеся от эритрозина красные пластинки». Архангельский и Страхов [3] указывают, что под микроскопом в глубоководных илах почти во всех без исключения пробах удается обнаружить капсулы диатомей и другие скелетные образования.

Нас также заинтересовал состав остатков органического происхождения в поверхностных слоях грунта сероводородной области Черного

моря. Хотелось выяснить, встречаются ли трупы наннопланктонных организмов, сохранившие тот внешний вид, какой они имели в поверхностных горизонтах воды, также и в глубоководных илах моря или такие сохранившиеся формы, попадающиеся в достаточно большом количестве в «дожде трупов» на больших глубинах, не могут быть обнаружены в грунтах. В значительной мере эти сравнительные исследования на фоне количественной оценки микробиологических процессов на дне Черного моря должны были пролить свет на роль сероводородного

Рис. 3. Остатки органического происхождения в поверхностных слоях глубоководных илов центральной котловины Черного моря.

1 — бесформенные частицы разных размеров, окрашивающиеся эритрозином; *2, 3, 4, 5* — створки различных диатомей; *6* — скелетные остатки кремнежгутиковых; *7* — обломки крупных диатомей; *8* — скопление скелетов различных организмов, связанных рыхлой массой, окрашенной в желтоватый цвет (ув. ×400)

заражения вод в скорости разложения органического вещества, т. е., иными словами, выявить специфику Черного моря в этом отношении по сравнению с другими морями.

Все пробы илов, которые подвергались микроскопическому анализу и микробиологическому изучению, были получены с помощью трубки Экмана со дна черноморской впадины на максимальных ее глубинах в восточной половине моря. Препараты для микроскопии готовились по следующей методике: каждая проба ила в количестве 1 г суспензировалась в 100 мл 0,0004 *N* раствора NaOH, взбалтывалась 30 минут и затем $^1/_{25}$ мл суспензии наносилась в смеси с одной каплей 0,1%-ного агар-агара, приготовленного на 1%-ном карболовом растворе (этот раствор агара предварительно фильтровался через мембранный фильтр и стерилизовался при одной атмосфере), равномерным слоем на площадь в 6 см^2 на предметном стекле. Препараты затем подсушивались и окрашивались 1%-ным эритрозином в 5%-ном карболовом растворе. Применение такой методики, представлявшей собой видоизменение ме-

тода Виноградского, позволило получить представление о количестве остатков органического происхождения и числе микробных тел в 1 г исследованных проб ила.

На рис. 3 приведено все разнообразие виденного в препаратах из поверхностных слоев ила на трех станциях, располагавшихся друг от друга (первая от второй) на расстоянии 40 миль и на расстоянии 75 миль (третья от второй) в центральной части восточной половины Черного моря. Глубина первой станции составляла 2130 м, на второй — 2170 м и на третьей — 2217 м. Легко судить по этим цифрам, что данные пробы были получены с наибольших глубин черноморской котловины.

Все обнаруженные в препаратах частицы органического происхождения сгруппированы по отличиям во внешнем виде на 8 групп, представители которых изображены на рис. 3 и табл. 2 под соответствующими номерами. В табл. 2 приводятся цифры, характеризующие численность этих различающихся форм в расчете на 1 г ила.

В наибольшем числе на всех станциях в поверхностном слое глубоководных илов встречаются бесформенные частицы различных размеров, окрашивающиеся эритрозином в красный цвет (рис. 3, *1* и в табл. 2 № 1). Они насчитываются миллионами на 1 г ила. Среди этих

Таблица 2

Количественное содержание остатков органического происхождения в поверхностных слоях глубоководных илов центральной котловины Черного моря

(В пересчете на 1 г ила)

№	Остатки органического происхождения	Первая станция	Вторая станция	Третья станция
1	Бесформенные частицы разных размеров, окрашивающиеся эритрозином	1 850 000	338 000	3 072 500
2	Бесцветные скелеты круглых диатомовых, мелких	120 000	60 000	367 500
3	Бесцветные крупные пористые скелеты диатомовых	60 000	120 000	142 500
4	Бесцветные тонкие длинные скелеты диатомовых	200 000	140 000	210 000
5	Бесцветные скелеты диатомовых овальной формы . . .	2 500	20 000	—
6	Бесцветные скелетные остатки кремнежгутиковых	482 500	620 000	375 000
7	Бесцветные обломки крупных диатомовых	40 000	30 000	45 000
8	Скопление скелетов различных организмов, связанных рыхлой массой, окрашенной в желтоватый цвет	—	100 000	67 500

микроскопических органических частиц, находящихся на различных ступенях разложения, однако, нам не удалось обнаружить наннопланктонных форм, найденных в поверхностных слоях и на больших глубинах Черного моря. Остальную массу остатков органического происхождения составляли по определению Усачева скелетные части различных

диатомей и кремнежгутиковых. На двух станциях можно было видеть в препаратах сравнительно большое число скелетов различных организмов в виде скоплений (рис. 3, *8*); эти скелеты были связаны между собой рыхлой, окрашенной в желтоватый цвет массой, среди которой попадались бесформенные частицы красного цвета. Сопоставляя данные, полученные на всех трех станциях, можно придти к выводу, что нет значительных колебаний в концентрации органических частиц, окрашивающихся эритрозином, в поверхностных слоях ила на значительной площади восточной части центральной котловины. За исключением некоторых форм, нет также резко выраженных изменений в численности скелетных частей в илах на различных станциях. Эти явления в какой-то мере характеризуют степень равномерности распределения некоторых форм жизни в верхних слоях халистатической области Черного моря в современные нам периоды.

В своей массе внешний вид органических частиц, окрашивающихся эритрозином, в поверхностных слоях илов свидетельствует о протекающих в грунтах Черного моря процессах разложения остатков животных и растений. Здесь даже мало изменившиеся по пути следования на дно формы подвергаются активному воздействию микроорганизмов, несмотря на высокую концентрацию сероводорода в придонных слоях воды.

«Дождь трупов» несет на дно Черного моря, представляющее в сероводородной области, т. е. на огромной площади, пустыню (77% площади черноморского дна, по данным Никитина [18], не заселено животными и растениями), органическое вещество, необходимое как пищевой материал для развития многих физиологических групп микроорганизмов. В присутствии сероводорода активно протекают в грунтах микробиологические процессы распада мертвого органического вещества, попавшего из «живой» зоны моря, приводящие к полной минерализации его, за исключением материала, трудно поддающегося разложению. Об интенсивности микробиологических процессов превращения органических и неорганических соединений в зоне пустыни на дне

Таблица 3

Количественное содержание микроорганизмов в поверхностных слоях илов на максимальных глубинах сероводородной области Черного моря

(В 1 г сырого ила)

Год исследования	№ станций	Общее число микробных тел (данные прямого счета) в млн.	Число колоний на РПА в тыс.	Титр микроорганизмов			
				разлагающих белки		десульфурирующих	денитрифицирующих
				аэробно	анаэробно		
1946	2		159	10^6	10^2	10^4	10^7
	3		513	10^6	10^5	10^5	10^7
	4		310	10^6	10^5	10^6	10^7
	5		224	10^6	10^6	10^6	10^5
1948	4		10	10^6	10^3	10^3	10^5
	7		50	10^6	10^4	10^1	10^7
	8		320	10^7	10^3	10^1	10^7
	11		60	10^4	10^2	10^4	10^5
1949	1	2962	10,8				
	2	2499	30				
	3	1522	50				

Черного моря говорят высокие числа микроорганизмов в илах, где они, судя по всем данным, находят нужные условия для своего существования и размножения.

Достаточно просмотреть цифры, приведенные в табл. 3, чтобы убедиться в том, насколько велика численность микробных форм в поверхностных слоях грунта на максимальных глубинах в сероводородной области Черного моря. Общее число клеток микроорганизмов, определенное методом прямого счета, в 1 г сырого ила составляло от 1,5 до 3 млрд (Крисс, Рукина и Тихоненко [13]). Значение этих цифр особенно отчетливо выступает при сопоставлении их с данными прямого счета микроорганизмов, относящимися к другим морям и некоторым озерам (табл. 4).

Таблица 4

Число микроорганизмов в илах различных морей и озер, определенное методом прямого счета

(В миллионах на 1 г сырого ила)

Черное море (Исаченко [7])	Азовское море (Исаченко [7])	Каспийское море (Колесник [9])	Баренцево море (Буткевич [4])	Карское море (Исаченко [8])	Море Лаптевых (Исаченко [8])	Атлантический океан (Waksman [26])	Озера (Кузнецов [14])
7,5—493	23,5—776	128—897	52—659	28—3046	11 757	202—346	922—2326

Легко при таком сравнении увидеть, что общее число микроорганизмов в поверхностных слоях грунта на больших глубинах сероводородной зоны Черного моря не только не меньше, чем в других морях или озерах, в которых кислород доходит до дна, но и находится в ряду максимальных значений цифр, сообщенных различными исследователями. Следует заметить, что значительные колебания в количестве микробных клеток в грунтах одного и того же моря или разных морей зависят не только от различия в примененных методах приготовления препаратов для прямого счета, но и определяются составом грунта, а также глубиной взятия пробы ила от поверхности дна моря. В некоторых областях моря существенное влияние на численность микробного населения в грунтах, как отмечает Исаченко [8], могут оказать такие гидрологические условия, как встреча течений.

Нельзя не признать также высокими числа, выражающие количественное содержание в глубоководных илах сероводородной зоны Черного моря микроорганизмов, вызывающих в процессе своей жизнедеятельности различные превращения органического вещества, вплоть до полной его минерализации (табл. 3). Из 1 г ила в части образцов вырастали сотни тысяч колоний, а на жидких средах представители таких физиологических групп микроорганизмов, как аммонифицирующие, денитрифицирующие и десульфурирующие, в метаболизм которых входит органическое вещество, насчитывались в ряде проб грунта миллионами и десятками миллионов, в расчете на 1 г ила. Наши исследования также показали (Крисс и Рукина [11, 12]), что не только численность, но и активность этих форм значительны.

Становится очевидным, что «дождь трупов» несет на дно Черного моря органическое вещество, являющееся субстратом для размножения самых различных микробных видов, несмотря на высокую концентрацию сероводорода в придонных слоях. Используя это органическое

вещество в своей жизнедеятельности, подвергая его многим превращениям, микроорганизмы этим самым не только обеспечивают возвращение биогенных веществ — продуктов минерализации органических соединений — в цикл круговорота, но и, вероятно, способствуют обогащению придонных слоев Черного моря трудноусвояемыми продуктами метаморфоза органических веществ (водным гумусом по Скопинцеву [23]). Сравнительные определения микроорганизмов — гетеротрофов в водной толще и на дне Черного моря (Крисс и Рукина [10, 11, 12]) убеждают нас в том, что наблюдающаяся на больших глубинах этого моря повышенная концентрация органического вещества определяется здесь не только накапливающимся из верхних слоев водным гумусом, но и, повидимому, в значительной мере обусловлена трудноразлагающимися органическими соединениями, подымающимися со дня Черного моря. Гипотеза Водяницкого [5] о взаимообмене вод Черного моря раскрывает механизм перемещения веществ из придонных слоев в кислородную зону, и нам остается в заключение еще раз подчеркнуть, что, несмотря на высокую концентрацию сероводорода у дна Черного моря, грунт его на больших глубинах является гигантской биохимической лабораторией, где активно протекающие процессы, осуществляемые живыми микроорганизмами или сохранившимися их энзимами (Мессинева [15]), определяют в значительной мере современный гидрохимический режим моря, обеспечивая возвращение в «живой» слой Черного моря биогенных элементов — продуктов минерализации «дождя трупов».

«...Скопление солей азота и фосфора в глубоких частях Черного моря» (Никитин [20], стр. 354) именно свидетельствует об энергичных процессах минерализации на дне сероводородной области Черного моря и не подтверждает, а, наоборот, опровергает мнение автора этой и нижеследующей цитаты о том, что «громадные массы органического вещества остаются погребенными в илистых отложениях дна Черного моря... и таким образом выходят из цикла биогенных элементов» (Никитин [20], стр. 354).

В заключение пользуемся случаем принести свою благодарность Н. В. Морозовой-Водяницкой и П. И. Усачеву за определение некоторых остатков фитопланктона в «дожде трупов» и грунтах.

Выводы

Из верхних слоев Черного моря, его «живой» зоны, непрерывно идет на дно «дождь трупов», наполняя глубины моря взвешенным органическим веществом в различных его формах: от обрывков, остатков и обломков организмов до хорошо сохранившихся представителей нанопланктона, обнаруженных на глубинах 1000, 1500 м и более. Число их в сероводородной зоне значительно, оно составляет несколько сотен в литре воды.

Опускающиеся на дно остатки животных и растений в Черном море, в отличие от других морей, не становятся достоянием глубоководной фауны, а являются в сероводородной области объектом действия только микроорганизмов. Последние успевают далеко не всё из этого взвешенного органического вещества подвергнуть полному разложению, прежде чем оно достигнет дна, причиной чего не является, однако, сероводородное заражение вод, судя по отсутствию каких-либо различий в числе и частоте встречаемости аэробных и анаэробных форм гетеротрофных микроорганизмов в сероводородной зоне Черного моря по сравнению с другими морями.

Высокая концентрация сероводорода в придонных слоях Черного моря не оказывает сколько-нибудь заметного консервирующего влияния на органическое вещество, достигшее дна в частично или полностью не разложенном состоянии. В поверхностных слоях илов сероводородной

области Черного моря активно протекают разнообразные микробиологические процессы, приводящие ко многим превращениям органического вещества, включая и полную минерализацию его. При рассмотрении микроскопических картин в глубоководных илах Черного моря и изучении микробного населения этих илов становится очевидным, что наличие сероводорода не создает каких-либо специфических условий, способствующих накоплению органического вещества в донных отложениях Черного моря в современный период,— обстоятельство, которое подтверждается также и данными химических определений.

Интенсивно протекающие на дне сероводородной области Черного моря процессы трансформации органических соединений приводят не только к возвращению в цикл круговорота необходимых для нормальной биологической продуктивности моря биогенных элементов — продуктов минерализации органического вещества, о чем свидетельствует повышенное содержание на больших глубинах аммиака, газообразного азота, метана, водорода, карбонатов, свободной угольной кислоты, фосфатов,— но и, повидимому, в значительной мере способствуют увеличению концентрации растворенного водного гумуса в придонных слоях Черного моря.

Институт микробиологии Академии Наук СССР
Москва
Севастопольская биологическая станция
Академии Наук СССР и
Азовско-черноморский институт морского
рыбного хозяйства и океанографии
Керчь

Получено 24. II. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрусов Н. Проблемы дальнейшего изучения Черного моря и стран, его окружающих. II. О сероводородном брожении в Черном море. Зап. Российской Акад. Наук по физ.-мат. отдел. VIII, 1, 1, 1894.
2. Архангельский А. и Копчёнова Е. Заметка об органическом веществе, фосфоре и ванадии в отложениях Черного моря. Изв. АН СССР, VII серия, Отд. физико-матем. наук, № 3, стр. 205, 1930.
3. Архангельский А. и Страхов Н. Геологическое строение и история развития Черного моря. Изд. АН СССР, 1938, М — Л.
4. Буткевич В. Методика бактериологического исследования и некоторые данные по распределению бактерий в воде и грунтах Баренцова моря. Тр. Гос. океан. ин-та, 2, 5, 1932.
5. Водяницкий В. Основной водообмен и история формирования солености Черного моря. Тр. Севастоп. биол. станции, 6, 386, 1948.
6. Горшкова Т. Цит. по Зенкевичу Л. Фауна и биологическая продуктивность моря, II, 60, 1947.
7. Исаченко Б. Микроскопический анализ грунтов Азовского и Черного морей. Зап. Гос. гидрол. ин-та, X, 377, 1933.
8. Исаченко Б. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Тр. Арктического ин-та, 82, 7, 1937.
9. Колесник Е. Микробиологические исследования грунтов южной и средней части Каспийского моря. Цит. по Исаченко Б., Микробиологические исследования морей СССР, Микробиология, VI, 964, 1937.
10. Крисс А. и Рукина Е. Микробиология Черного моря. Распространение микроорганизмов в водной толще Черного моря. Микробиология, XVIII, 141, 1949.
11. Крисс А. и Рукина Е. О происхождении сероводорода в Черном море. Микробиология, XVIII, 332, 1949.
12. Крисс А. и Рукина Е. Восстановительные и окислительные процессы в сероводородной области Черного моря. Микробиология, XVIII, 402, 1949.
13. Крисс А., Рукина Е. и Тихоненко А. Биомасса микроорганизмов на дне в сероводородной области Черного моря. ДАН СССР, LXXV, № 3, 453, 1950.
14. Кузнецов С. Основные итоги и очередные задачи микробиологических исследований иловых озерных отложений. Тр. Всес. гидробиол. об-ва, 1, 73, 1949.
15. Мессинева М. Активные ферменты в иловых отложениях озер Залучья. Тр. Лабор. генезиса сапропелей, вып. 2, 1941.
16. Морозова-Водяницкая Н. Фитопланктон Черного моря, ч. 1. Тр. Севастоп. биол. станции, 6, 39, 1948.

17. Морозова-Водяницкая Н. Численность и биомасса фитопланктона в Черном море. ДАН СССР, LXXIII № 4, 821, 1950.
18. Никитин В. Нижняя граница донной фауны и ее распределение в Черном море. ДАН СССР, XXI, № 7, 341, 1938.
19. Никитин В. Основные закономерности распределения жизни в Черном море. Тр. Ин-та океанологии АН СССР, т. III, 173, 1949.
20. Никитин В. Границы вертикального распространения организмов в Черном море. Сборник статей памяти Ю. М. Шокальского, ч. 2, стр. 313, 1950.
21. Равич М. Цит. по «Трудам особой Зоолог. лаборат. и Севастопольской биол. станции АН СССР», сер. II, № 10, 183, 1926.
22. Скопинцев Б. О скорости разложения органического вещества отмершего планктона. ДАН СССР, LVIII, № 8, 1797, 1947.
23. Скопинцев Б. Органическое вещество в морских водах. Тр. Гос. океан. ин-та, вып. 10 (22), 3, 1948.
24. Страхов Н. О значении газового режима бассейна для накопления в его осадках органических веществ. Изв. АН СССР, сер. геол., № 4—5, 117, 1941.
25. Теодорович Г. О некоторых условиях накопления органического вещества в связи с образованием доманиковых отложений южного Урала. Изв. АН СССР, сер. геол. № 3, 169, 1941.
26. Waksman S. The distribution and conditions of existence of bacteria in the sea. Ecological monogr., 4, 1934.

Светлой памяти дорогого учителя
академика
Бориса Лаврентьевича Исаченко

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОЗЕРА БЕЛОВОДЬ

А. А. Егорова

Озеро Беловодь, расположенное в Собинском районе Владимирской области, является одним из провальных озер, геологически приуроченных к Окско-Цнинскому валу. Одной из характерных особенностей этого водоема является различие в плотности верхних и глубинных слоев воды. Последнее зависит, повидимому, от глубинного питания этого озера более минерализованной водой с значительным содержанием сульфатов.

Озеро это изучали ряд исследователей: Н. И. Кузнецов [4], С. И. Кузнецов [5]; они в основном исследовали химический состав воды и показали, что озеро можно отнести к биоанизотропному типу. Они выяснили, что полная циркуляция воды в этом водоеме достигает лишь глубины 14,5 м. Слои, лежащие ниже, насыщены сероводородом вследствие восстановления сульфатов десульфурирующими бактериями, а на границе слоев, содержащих сероводород и кислород, наблюдается сильное развитие серобактерий.

Однако указанные исследователи далеко не полно характеризовали микробное население этого озера, да и вообще в отношении биоанизотропных водоемов имеются лишь единичные микробиологические исследования.

Первое исследование водоемов этого типа принадлежит русскому ученому Исаченко (Могильное озеро, 1906) [2]. Позднее Düggeli [11], Jimbo [12] исследовали подобные водоемы в Швейцарии и Японии.

Мы ставили основной своей задачей дать более подробную микробиологическую характеристику озера Беловодь и проверить, насколько изменились некоторые из физических и химических показателей этого озера со времени первых наблюдений, проведенных в 1908 г. Н. И. Кузнецовым, в частности.

1) определить вертикальное расположение в озере и температуры некоторых химических показателей: растворенного кислорода, сероводорода и сульфатов;

2) учесть количество сапрофитных, в том числе и спорообразующих бактерий, на различных глубинах, определить видовой состав наиболее часто встречающихся форм;

3) проследить расположение в озере сероводородной зоны, а также учесть общее количество бактерий методом микроскопического учета.

Озеро Беловодь расположено в 7 км от станции Ундол-Собинка Горьковской жел. дор.; оно почти круглой формы, окружено лесом, лежит в котловине, занимая площадь немного более 2 га, имеет искусственный сток в близлежащее озеро Карасье.

Берега этого озера невысокие и полого спускаются к воде. Западный берег ниже других, заболочен и зарос березой; у других же берегов встречается ольха, осина, ель и изредка сосна.

Водная прибрежная растительность состоит из осоки, тростника и др. Дно покрыто зарослями хары, которая глубже других опускается в воду.

Находящиеся в воде коряги сплошь покрыты мощным слизистым налегом барежины.

Глубина озера 23 м. Поверхностная вода запаха не имеет.

Уже в прибрежной полосе озера находятся мощные иловые отложения. Трехметровый шест легко входит своей тяжестью в ил. Вязкий, маслянистый, эластичный ил окрашен сернистым железом в черный цвет и пахнет сероводородом. Этот ил внешне похож на лечебную грязь [1]. Посевы его на среду Ван-Дельдена вызывают сильное восстановление сульфатов. Поверхностный — окисленный — слой имеет серый цвет, а перенесенный в склянку с водой из озера дает черные пятна и постепенно превращается в черную массу.

Пятен пурпурных бактерий в литорали, как это бывает в лиманах, мы не обнаружили. Повидимому, как указывает Омелянский [8], наибольшее развитие пурпурных серобактерий в пресноводных сероводородных бассейнах наблюдается в осенние месяцы, когда под влиянием гниения растительных остатков выделяется особенно много сероводорода и в то же время сила света ослаблена. Наши наблюдения относятся к первым числам августа. В лаборатории собранный ил, залитый озерной водой, дал красные пятна пурпурных бактерий.

Вода этого озера, по словам старожилов, замерзает позже, чем вода в окружающих озерах. Плотного льда на середине озера не бывает даже в сильные морозы, сверху появляется вода и «снежница».

1. Гидрохимическая характеристика воды озера Беловодь

Одной из особенностей озера Беловодь является значительно большая плотность глубинных слоев воды, начиная с 14,5 м.

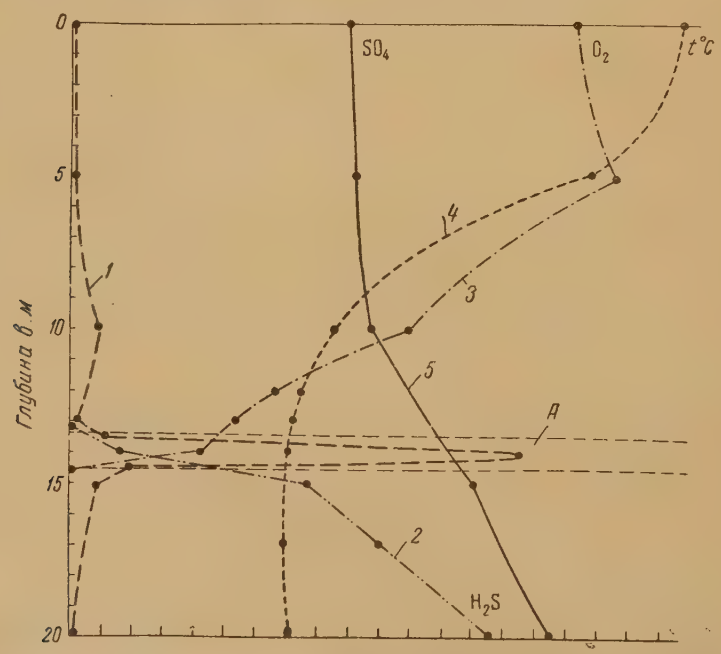


Рис. 1. Вертикальное распределение в воде озера Беловодь: пурпурных бактерий (*1*), сероводорода (*2*), растворимого кислорода (*3*), температуры (*4*) и сульфатов (*5*). Одно деление масштаба соответствует:
1 — 100 000 клеток в 1 см³; *2* — 0,5 мг/л H_2S; *3* — 0,5 мг/л O_2; *4* — 1°; *5* — 50 мг/л SO_4. *A* — зона массового развития пурпурных бактерий

[1] В работе Н. И. Кузнецова [4] есть указание, что это озеро использовалось как лечебное и с большим успехом.

Впервые это явление было обнаружено Долговым [1] путем послойного измерения электропроводности воды. Эта чрезмерная плотность в основном обусловливается повышенным содержанием сульфатов и накладывает резкий отпечаток на весь гидрохимический и биологический характер водоема.

Характерной особенностью воды озера Беловодь является наличие зоны соприкосновения слоев воды, насыщенных кислородом и сероводородом (рис. 1, *2, 3*). Полное отсутствие одного из указанных газов определяет верхнюю и нижнюю границу массового развития пурпурных серобактерий.

Следует отметить также особенности вертикального распределения температуры в воде озера (рис. 1, *4*). В поверхностном слое (от 0 до 5 м) температура воды почти одинакова. Температурный скачок расположен на глубине от 5 до 10 м, где идет более значительное падение температуры воды от 17° до 8,5°. В более глубоких слоях озера температура остается практически почти неизменной — около 7° (табл. 1, рис. 1).

Кривая, характеризующая содержание сульфатов, дает основание предполагать глубинное питание сульфатами воды озера.

Таблица 1

Гидрохимический анализ воды озера Беловодь (вертикальный разрез 2.VIII. 1948 г.)

Глубина в м	Температура	O_2 в мг/л	H_2S в мг/л	SO_4 в мг/л
0,3	20	8,25	0,00	455,0
5,0	17	8,80	0,00	462,0
10,0	8,5	5,50	0,00	494,0
12,0	7,5	3,42	0,00	
13,0	7,2	2,75	0,00	
14,0	7,0	2,20	0,80	
15,0	7,0	0,00	3,84	655,0
17,0	7,0	0,00	5,02	
20,0	7,0	0,00	6,80	775,0

Таблица 2

Сводные данные химических анализов воды озера Беловодь 1938 и 1948 гг.

Данные анализов	Кузнецов С. И.		Егорова А. А.	
	поверхностная	придонная	поверхностная	придонная
	1938 г.		1948 г.	
Цвет воды	Голубоватый			
pH	8,1	7—7,8	7,8	7,6
Сульфаты (мг/л) (SO_4)	495	834	455	755
Нитраты	—	—	0	0
Нитриты	—	—	0	0
H_2S свободный	0	8,14	0	6,5
Кислород	7,8	0	8,25	0

На протяжении 40 лет был проведен ряд анализов воды озера Беловодь. Представляло большой интерес путем их сопоставления выяснить постоянство состава воды озера за этот промежуток времени.

Первый химический анализ воды озера Беловодь был произведен 28. VII. 1908 г. по просьбе Н. И. Кузнецова в почвенной лаборатории земства Владимирской губ. Анализ этот далеко не полный. В заключение было сказано, что вода мало пригодна для питья и резко отличается от речной и озерной воды Владимирской губ. В дальнейшем анализы проводились примерно через каждые 10 лет (табл. 2).

Содержание сульфатов в придонной воде за последние 10 лет, как видно из анализов Кузнецова [5], проведенных с 1938 г. и наших — в 1948 г., оставалось более или менее постоянным.

2. Количественный учет сапрофитных бактерий по вертикальному разрезу озера

Пробы воды для исследования сапрофитной микрофлоры озера брались прибором Исаченко в стерильные баллоны.

Количественный учет сапрофитных неспороносных и спорообразующих бактерий проводился на МПА глубинным посевом воды — прямо в расплавленную питательную среду. Учет спорообразующих форм производился после нагревания воды до 80° в течение 10 минут (по Мишустину). Посевы выдерживались при температуре 20—22°. Выросшие колонии учитывались на 5 и 10-й день (табл. 3 и рис. 2).

Таблица 3

Вертикальное распределение сапрофитных бактерий в озере Беловодь (питательная среда МПА) 2.VIII.1948 г.

Глубина в м	Общее количество неспоровых форм в 1 мл воды		Количество споровых форм в 1 мл воды	
	на 5-й день	на 10-й день	на 5-й день	на 10-й день
0,3	247	1347	3	4
5,0	79	379	2	2
7,0	48	148	1	1
10,0	63	191	0	0
13,0	57	549	2	2
14,0	81	484	1	1
(розовая)				
15,0	20	156	0	0
17,0	60	210	4	4
20,0	66	332	1	1

Как видно из табл. 3 и рис. 2, количество колоний бактерий, выросших на 5-й день, значительно меньше, чем на 10-й день. Поверхностный слой более богат сапрофитной микрофлорой, чем нижележащие слои. Некоторый максимум наблюдается и на границе соприкосновения слоев, содержащих кислород и сероводород. Споровых форм обнаружены доли процента от общего числа сапрофитов.

Нужно отметить, что в воде Беловодь преобладает пигментная микрофлора в особенности в сероводородной зоне. Из этих глубин чашки были сплошь покрыты только пигментными видами.

Ниже мы приводим видовой состав бактерий, наиболее часто встречающихся в воде озера Беловодь.

Для определения видового состава микроорганизмов, выделенных в чистые культуры из воды озера, мы пользовались определителем бактерий Красильникова [3]. Обнаружены следующие виды: Mycobacterium lacticolum Lehmann et Neumann, M. luteum Söhngen, M. phlei Moeller, M. segmentosum Gautley, M. vadosum Krassilnikov; Micrococcus citreus Migula, M. radiatus Flügge; Sarcina alba Zimmermann, S. bicolor Kern., S. flava De Bary, S. lutea Schröter; Pseudomonas fluorescens Migula, Bacillus brevis Migula; B. centrosporus Ford, B. gracilis Zimmermann, B. megatherium., De Bary, B. mycoides Flügge, B. myxodens Burchard, B. subtilis Ehrenberg, B. terminalis Migula; Actinomyces albido-flavus Duche, A. odorifer Rullmann.

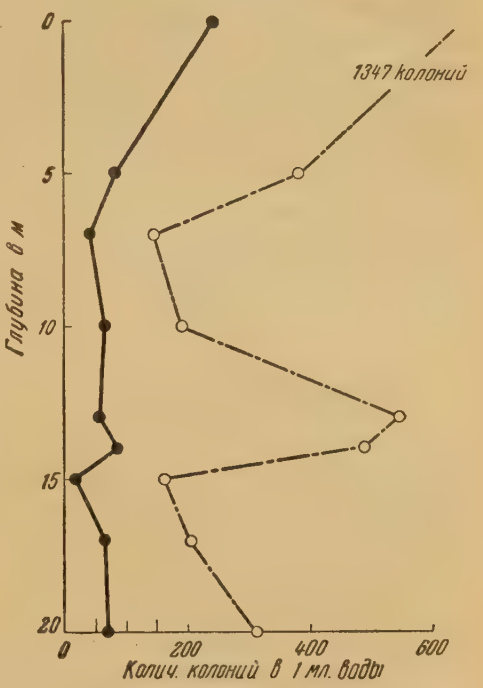


Рис. 2. Вертикальное распределение сапрофитных бактерий в озере Беловодь в 1 мл воды. Питательная среда МПА. Подсчет колоний на 5 и 10 день. Одно деление масштаба равно 50 колониям в 1 мл

3. Зона массового развития пурпурных бактерий

Долгов [1] и С. И. Кузнецов [5] обнаружили в воде озера Беловодь на глубине 14,5 м массовое развитие пурпурных бактерий. Одной из наших задач являлось уточнить глубину их расположения и сопоставить с прежними данными.

Анализы были проведены 2. VIII. 1948 г. Вода добывалась батометром с середины озера, через каждый метр. До 13 м она была совершенно прозрачной, без заметного запаха сероводорода. На глубине 14 м была обнаружена вода розового цвета с заметно лиловым оттенком и ясно ощутимым запахом сероводорода. На тех же глубнах, ближе к берегу, вода была прозрачна, запах сероводорода отсутствовал. На 15 м вода снова была бесцветной и прозрачной и отличалась от поверхностной только запахом сероводорода.

Таблица 4

Количество пурпурных бактерий в зоне соприкосновения кислорода с сероводородом

Глубина в м	Пурпурные серобактерии в 1 мл воды в тысячах
13,5	125
14,0	1 442
14,5	209

Определив приблизительно границу расположения зоны массового развития пурпурных бактерий, для уточнения толщины ее слоя, мы брали пробы воды в этих местах через более мелкие интервалы и, таким образом, установили, что зона распределения и массового развития серобактерий простирается от 13,5 до 14,5 м. Наиболее интенсивное развитие пурпурных бактерий обнаружено на глубине 14 м.

В дальнейшем нами было более детально выяснено количество пурпурных бактерий в зоне соприкосновения слоев, содержащих кислород и

сероводород. Вода с глубины 13,5 14,0 и 14,5 м фильтровалась через мембранные фильтры на месте и после предварительной обработки фильтров просматривалась под микроскопом. Производился подсчет, результаты которого приведены в табл. 4.

Таким образом, мы видим, что наибольшее количество пурпурных серобактерий было обнаружено на глубине 14,0 м (1 442 240 клеток в 1 мл).

Если мы сравним полученные нами данные с результатами анализов С. И. Кузнецова от 30. VII. 1938 г., то увидим, что зона развития серобактерий в озере Беловодь поднялась выше. По наблюдениям С. И. Кузнецова, наибольшее количество было отмечено на глубине 14,8 м и достигало 1 003 500 клеток в 1 мл.

Нами был определен видовой состав пурпурных серобактерий по Bavedamm [10] в этих зонах озера. Он состоит из пяти видов: Chromatium weissei Perty, Chr. vinosum Ehrenberg, Chr. okenii Ehrenberg, Chr. minutissimum Winogradsky, Thiocystis violacea Winogradsky.

4. Микроскопический учет бактерий в воде озера Беловодь

Для микроскопического учета бактерий в воде озера вода также фильтровалась (1, 3, 5 мл) через мембранные фильтры № 3 (10 мм диаметра). Учет производился по методу Разумова [9]. Результаты подсчетов сведены в табл. 5 и рис. 1, кривая *1*.

Таблица 5

Вертикальное распределение бактерий в озере Беловодь. Микроскопический учет в 1 мл воды (цифры даны в тысячах)

Глубина в м	Бактерии	Пурпурные серобактерии	Общее количество бактерий
0,3	1,805	46	1,851
5.0	1,358	32	1,390
10,0	1,596	97	1,693
13,0	1,274	21	1,295
13,5	1,290	125	1,415
13,9	1,061	1 300	2,361
14,0	1,099	1 442	2,541
14,5	1,282	209	1,491
15,0	1,087	92	1,179
20,0	1,903	35	1,938

Из табл. 5 видно, что вертикальное распределение общего количества бактерий в воде озера Беловодь при исключении специфической группы серобактерий неравномерно. Больше всего их в поверхностном и придонном слоях и в сероводородной зоне, там, где пурпурные серобактерии дают максимум и остальные бактериальные формы дают минимум.

Микроскопический анализ препаратов показывает, что в воде, взятой из сероводородной зоны, появляются новые формы бактерий, палочки, окруженные кристаллами, зернистые, извитые и слабо изогнутые, более длинные формы, которые не наблюдаются в верхних слоях воды, насыщенных кислородом. Все эти формы хорошо связывают карболовый эритрозин. Вообще же бактерии в сероводородной зоне воспринимают окраску за исключением серобактерий и выше указанных форм слабее, чем в выше лежащих слоях.

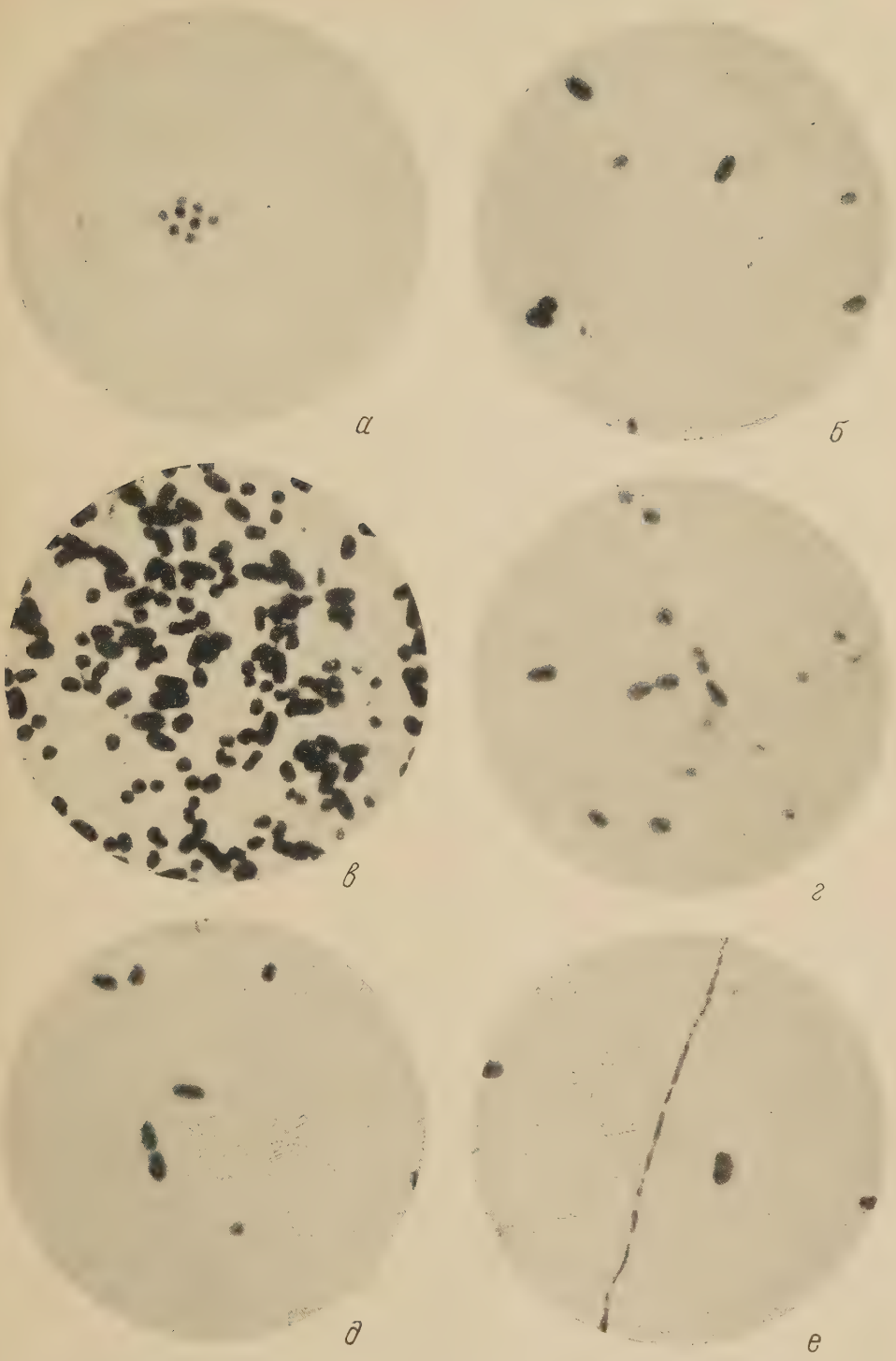


Рис. 3. Вертикальное распределение Chromatium в воде озера Беловодь. Микрофотографии сделаны с препаратов мембранных фильтров. Через каждый фильтр с порами около 0,4 μ диаметром в 1 см, фильтровалось 3 мл воды, окраска карболовым эритрозином. Глубина отбора проб воды приведена в метрах.

а — 0; *б* — 10; *в* — 14; *г* — 14,5; *д* — 15; *е* — 20 (ув. × 700).

5. Описание барежины, развивающейся в прибрежной зоне озера Беловодь

Мощные слизистые налеты барежины белого цвета с серовато-желтым оттенком, пронизанные пузырьками воздуха, покрывают ветки коряг, образуя причудливые формы, хорошо заметные сквозь прозрачную воду озера (рис. 4). При легком прикосновении барежина легко соскальзывает с веток коряг и всплывает на поверхность воды.

Как известно, барежина встречается в горячих минеральных источниках Кавказа и других и применяется с лечебной целью. Нами найдена барежина в водах холодного озера Беловодь.

Рис. 4. Слизистые налеты барежины, покрывающие ветки коряг

Исследования под микроскопом обнаружили в барежине огромное количество различных видов диатомовых водорослей (рис. 5), встречаются также, но в меньшем количестве, синезеленые водоросли, нитчатые серобактерии и др. Указанные микроорганизмы находятся в слизи, а между ними лежат различных размеров кристаллы углекислого кальция и серы.

Основная масса барежины озера Беловодь состоит из диатомовых водорослей. Видовой состав их следующий: Cymbella leptoceros (Ehrenb.) Grun., C. austriaca Grun., C. helvetica Kütz., C. helvetica v. gracilis Meistr., C. turgidula Greg., C. maculata Kütz., C. cymbiformis Kütz., Mastogloia Smithii Thm., M. v. lacustris Grun.; Epithemia argus Ehrenb.; Denticula tenuis Kütz.; Eunotia arcus Ehrenb.; Cocconels placentula Ehrenb.; Navicula cryptocephala Kütz.; N. lanceolata Kütz., N. lanceolata v. tenella, N. oblonga Kütz., N. oblonga v. genuina, N. radiosa Kütz., N. radiosa v. genuina; Rhopalodia gibba Ehrenb., R. parallela (Grun.) O. Müll., Synedra splendens (Kütz.) [2].

Преобладающими формами в барежине озера Беловодь являются виды Cymbella leptoceras, довольно часто встречаются также Mastogloia Smithii и др. В нашем перечне диатомовых водорослей отдельные виды расположены в порядке частоты их встречаемости в барежине.

Пурпурных серобактерий в естественных условиях в барежине в зоне, пересыщенной кислородом, нам не удалось обнаружить. Перенеся же эту белую слизистую массу в стерильные пробирки и залив озерной

[2] Видовой состав диатомовых водорослей, по моей просьбе, определила А. Я. Мусатова, которой приношу благодарность.

водой уже в лаборатории, мы обнаружили довольно крупные красные пятна пурпурных бактерий.

Вначале барежина постепенно уплотнялась, оседая на дно пробирки. Через некоторое время белая масса изменяла постепенно свой цвет, вначале переходя в желто-зеленоватый, позднее — в коричневатый, темно-зеленый и почти черный. На этом темном фоне появились красные колонии пурпурных серобактерий и заняли большую часть в пробирке. В этой красноватой массе обнаружено огромное количество подвижных спирилловидных клеток Thiospirillum rufum Perty.

В общем мы получили почти ту же картину, которую описал в свое время Исаченко, но исходный материал был различный: в его опытах был ил Могильного озера, а у нас слизистая масса — барежина.

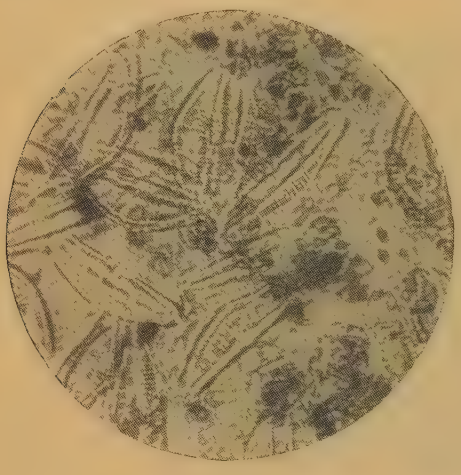


Рис. 5. Микроскопический препарат барежины ув. × 900

Обсуждение результатов

Озеро Беловодь представляет собой чрезвычайно интересный водоем биоанизотропного типа, редко встречающегося в природе и уже с давних пор привлекавшего большое внимание исследователей.

Сравнение данных химических анализов за последние 10 лет показывает, что порог изменения плотности воды в озере все время находится на одной глубине — 14—14,5 м. Отмеченные небольшие колебания можно объяснить тем, что уровень воды в озере мог измениться в зависимости от количества осадков, выпавших в данном сезоне.

Плотность воды лучше всего характеризуется содержанием сульфатов. Судя по анализам различных авторов, в придонном слое в 1938 г. наблюдалось максимальное содержание сульфатов (834,0 мг/л), затем концентрация их снизилась и установилась на уровне 775 мг/л. Это показывает, что глубинные слои озера участвуют в какой-то мере в водообмене.

Интересно отметить, что содержание сероводорода в слоях, близко прилегающих ко дну водоема, также достигало какой-то стабильной величины, с небольшим повышением в 1938 г. (8, 14 мг/л).

Часть сероводорода безусловно диффундирует в верхние слои; особенно это хорошо видно из данных зимнего анализа воды, проведенных С. И. Кузнецовым, когда граница распределения сероводорода поднималась до 11 метров.

Одной из интереснейших биологических особенностей озера Беловодь является наличие в нем на глубине 14,0—14,8 м массового развития пурпурных серобактерий в период летней стагнации. Во время же полной осенней циркуляции воды, которая достигает уровня 14,8—15,0 м, как показали анализы С. И. Кузнецова, слой с массовым скоплением пурпурных серобактерий исчезает.

Наши анализы подтвердили наблюдения Долгова и С. И. Кузнецова, что при массовом развитии пурпурных серобактерий вода озера принимает здесь розовый цвет, мы бы добавили только, что этот цвет с лиловым оттенком; количество этих серобактерий достигает более 1 млн. клеток на 1 мл воды.

Попытка установить горизонтальное распределение пурпурных серо-

бактерий в воде озера показала, что массовое скопление серобактерий имеется над максимальной глубиной озера и снижается по направлению к берегу. Это можно объяснить возможностью нисходящих придонных токов воды по ложу озера, обогащенных кислородом.

Наши анализы показали, что наличие кислорода в верхних слоях воды и наличие сероводорода до 6,8 мг/л в нижних мало влияют на вертикальное распределение общего количества бактерий. Однако по качественному составу сапрофитная микрофлора, встречающаяся в сероводородном слое, отличается от той, которая находится в вышележащих слоях.

Интересно отметить: 1) что отношение между подсчетом бактерий прямым методом и на агаровых пластинках здесь так же резко расходится, как и в других чистых озерах и 2) что интенсивность окраски бактерий эритрозином в препаратах на мембранных фильтрах далеко не однородна в разных слоях. Многие из бактерий сероводородной зоны окраску воспринимают очень слабо или почти не окрашиваются, несмотря на то, что обработка препаратов для микроскопического счета бактерий эритрозином была произведена одновременно. Это указывает на то, что не все встречающиеся клетки равноценны.

Анализ качественного состава сапрофитной микрофлоры и ее видовое определение (форм, выделенных с МПА) показал, что значительный процент из выделенных бактерий составляют микобактерии. Роль микобактерий в минерализации органического вещества в озерах в настоящее время, очевидно, недооценивается. Сравнение наших данных по Беловоди с качественным составом сапрофитной микрофлоры, выделенной Кузнецовым [6] по сибирским озерам различной степени солености, показывает, что группа микобактерий широко распространена. Это объясняется, надо полагать, тем, что микобактерии нередко удовлетворяются малыми концентрациями органического вещества.

Интересно отметить также, что из выделенной микрофлоры значительный процент составляют палочки со спорами. Большинство из них выделено из непрогретого материала.

Эти организмы, по данным Мишустина [7], являются индикаторными формами на наличие процессов глубокой минерализации органического вещества, и, повидимому, эти процессы идут в водной массе озера Беловодь.

В заключение приношу глубокую благодарность проф. Н. А. Красильникову за консультации и помощь при определении бактерий.

Выводы

1. Озеро Беловодь представляет собой биоанизотропный водоем с установившейся химической стратификацией, со значительным содержанием сероводорода в нижних более плотных слоях воды.

2. На границе слоев с различной плотностью в период летней стагнации, на основной впадине озера наблюдается массовое развитие пурпурных серобактерий, окрашивающих воду в этой зоне в заметно розовый цвет. Количество пурпурных серобактерий на глубине 14 м достигает 1,4 млн. клеток в 1 мл воды и резко падает в выше- и нижележащих слоях.

3. Видовой состав пурпурных серобактерий в этой зоне состоит в основном из Chromatium и Thiocystis.

4. Остальные микроорганизмы, учтенные микроскопическим методом, распределяются по вертикали довольно равномерно, нет большой разницы между количеством бактерий в слоях, насыщенных кислородом, и в сероводородной зоне.

5. Микроскопический анализ мембранных фильтров показывает, что в воде, взятой из сероводородной зоны, появляются новые формы бак-

терий: палочки, окруженные кристаллами, зернистые, извитые и слабо изогнутые, более длинные формы, которые не наблюдаются в верхних слоях воды, насыщенных кислородом.

6. Видовой состав сапрофитной микрофлоры состоит из микобактерий, кокковых и бациллярных и др. форм, список которых приводится в тексте.

7. Барежина, обнаруженная в холодном озере Беловодь, морфологически отличается от барежины горячих источников Кавказа; в основном она состоит из диатомовых водорослей с преобладанием видов Cymbella, Mestogloia и некоторых других. Видовой состав диатомовых водорослей приводится в тексте.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 6. II. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долгов Г. И. Определение удельной электропроводности воды как разведочный метод лимнологических исследований. Изд. Севанской озерной станции. Ереван, 1931.
2. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Тр. Мурм. науч.-промыслов. экспедиции 1906 г. СПб., 1914.
3. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. АН СССР, Ин-т микробиологии, 1949.
4. Кузнецов Н. И. О некоторых интересных озерах Владимирской губернии. Тр. Владим. об-ва любителей естествозн., 3, вып. 1, 1909.
5. Кузнецов С. И. Круговорот серы в озерах. Микробиология, т. XI, вып. 5, 1942.
6. Кузнецов С. И. Микробиологическое исследование сибирских озер. Тр. лаборатории сапропелевых отложений, вып. IV, 1950.
7. Мишустин Е. Н. О роли споровых бактерий в почвенных процессах, т. XVII, вып. 3, 1948.
8. Омелянский В. Л. Основы микробиологии, 1936.
9. Разумов С. И. Прямой метод учета бактерий в воде. Микробиология 1, 131, 1932.
10. Bavendamm W. Die farblosen und roten Schwefelbakterien des Süss- und Salzwassers. Pflanzenforschung. Heft 2, 1924.
11. Düggeli M. Bakteriologische Untersuchungen am Riromsee. Z. Hydrobiol., 2, 65, 1924.
12. Jimbo T. Beobachtungen einiger thiotropher Seen Japans mit besonderer Berücksichtigung der Schwefelbakterien. Sc. Rep. Tohoku Imp. Univ. Ser., Biol., 13 (3), 259, 1938.

АЗОТОБАКТЕР В ПОЧВЕ ТРАВОПОЛЬНОГО СЕВООБОРОТА

И. А. Геллер и *Е. Г. Харитон*

Азотфиксирующая способность почвы — один из важнейших элементов плодородия; по подсчетам ряда исследователей, при благоприятных условиях фиксация свободного азота азотфиксирующими бактериями почвы достигает 70 кг азота на гектар.

Сознательное управление почвенной микрофлорой с целью повышения плодородия почвы — основная цель многих сложнейших исследований в области изучения природы микронаселения почвы.

В этом направлении наиболее подробно изучались возможности практического использования азотфиксирующих бактерий, и, как доказано многочисленными экспериментами, внесение культуры азотобактера в почву во многих случаях повышает урожай различных сельскохозяйственных культур на 20—30%, а в отдельных случаях значительно выше [4, 5, 6, 8]. В то же время ряд исследователей констатировали отсутствие в отдельных опытах эффекта при внесении в почву препарата азотобактерин [3, 7].

Очевидно, усиление азотфиксирующей способности почвы определяется не только внесением азотфиксирующих бактерий. Необходимо одновременно с внесением создавать благоприятные условия для жизнедеятельности азотобактера в почве.

Поэтому крайне важно выяснить те специфические почвенные условия, какие прямо или косвенно влияют на жизнедеятельность азотобактера в почве. Это позволит использовать азотобактерин не вслепую, а применительно к конкретным почвенным условиям и в зависимости от системы агротехнических мероприятий и системы удобрений.

Но до настоящего времени условия жизнедеятельности азотобактера в почве травопольного севооборота детально не выяснены. Опыты по изучению эффективности азотобактерина в отношении урожая сельскохозяйственных культур ставились только в условиях паропропашного севооборота. Между тем почвенные процессы, в том числе и микробиологические, в почве травопольного севооборота протекают иначе, чем в почве паропропашного севооборота.

Травопольная система земледелия, как система мероприятий по восстановлению и дальнейшему повышению плодородия почвы, исходит из необходимости улучшения структуры почвы, что достигается введением в севооборот смеси многолетних трав, обеспечивающих улучшение структуры и повышение содержания органических веществ.

Пласт многолетних трав запахивается поздней осенью с целью разложения растительных остатков в анаэробных условиях, способствующих образованию и сохранению активного перегноя [1]. В почвах травопольного севооборота, таким образом, создаются условия для накопления и сохранения органических веществ, создается иной окислительно-восстановительный режим почвы, и в связи со всем этим изменяется характер жизнедеятельности микроорганизмов.

Конкретные изменения в соотношении различных групп микроорганизмов в почвах травопольного севооборота экспериментально изучены недостаточно.

Азотобактер как аэробный микроорганизм нуждается в свободном доступе кислорода воздуха; вместе с тем процесс азотфиксации нераз-

рывно связан с низким окислительно-восстановительным потенциалом среды.

Как показали детальные исследования Федорова [8, 9], процесс азотфиксации азотобактера протекает двумя фазами: в первой фазе азот присоединяется к кислороду по месту двойной связи карбонильной группы при условиях окислительно-восстановительного потенциала, исключающих конкуренцию активного кислорода; во второй фазе азот восстанавливается за счет активного водорода, мобилизуемого из окисляемого вещества. По автору, окислительный потенциал первой фазы лежит около +0,80 — +0,20 в, а во второй фазе потенциал смещается до —0,60 — —0,20 в.

Таким образом, сочетание условий свободного доступа кислорода к азотобактеру для дыхания с низким окислительно-восстановительным потенциалом органического субстрата, используемого азотобактером для его жизнедеятельности, должно оказаться наиболее оптимальным для него.

Именно такие условия создаются в почве в травопольном севообороте, где на поверхности структурных отдельностей господствуют аэробные условия, и в то же время в самом комке почве, обогащенном органическими веществами, преобладают анаэробные условия. По мере минерализации активного перегноя структура почвы разрушается, условия для жизнедеятельности азотобактера ухудшаются в связи с отсутствием органических соединений с низким окислительно-восстановительным потенциалом.

Таблица 1

Содержание азотобактера в почве в севообороте. Азотобактер (% проросших комков)

Клевер		Клевер и тимофеевка		Яровая пшеница по пласту смеси трав			Свекловичные высадки по яровой пшенице			Свекловичные высадки по озими по клеверу			Сахарная свекла по озими по клеверу			Черный пар
1-й год жизни	2-й год жизни	1-й год жизни	2-й год жизни	16.V	20.VIII	1.IX	28.IV	24.VI	27.VII	28.V	24.VI	27.VII	1.VI	1.VII	1.X	
Осолоделый чернозем Льговской станции																
—	—	100	100	96	56	40	55	32	36	76	28	30	21	24	30	—
Оподзоленный чернозем Верхнячской станции																
32	62	78	90	—	—	—	71	—	—	39	—	—	—	—	—	16

В табл. 1 приведены результаты исследований динамики азотобактера в севообороте. Они ясно говорят о том, что культура многолетних трав (клевер) активирует азотобактер в почве, причем смесь многолетних трав (клевер и тимофеевка), как и следовало ожидать, оказывается более действенной, чем одна бобовая трава, благодаря тому, что смесь многолетних трав обогащает почву органическими веществами в большей степени.

Под последующими культурами содержание азотобактера в почве непрерывно понижается и тем больше, чем дальше отходит культура севооборота от травяного предшественника, а это, очевидно, связано с минерализацией органических соединений, оставляемых пластом мно-

голетних трав. Действительно, при ранних сроках запашки пласта трав, когда создаются условия бурного аэробного разложения растительных остатков, содержание азотобактера в почве под последующими культурами резко понижается при ранних сроках по сравнению с поздними.

Таблица 2

Содержание азотобактера в почве в связи со сроками запашки дернины

Почва	Культура	Предшественник	Сроки запашки пласта	Азотобактер: (% проросших комков)—15.IV
Оподзоленный чернозем Верхнячской станции	Свекловичные высадки	Клевер	Июнь	33
		Клевер + тимофеевка	„	54
		То же	Август	63
		„ „	Октябрь	71

При поздних сроках запашки пласта на слабооподзоленном черноземе под свекловичными высадками содержание азотобактера наивысшее и закономерно понижается от поздних к ранним срокам, ибо аэробные условия способствуют интенсивному разложению органических остатков (табл. 2).

О накоплении окисленных продуктов в почве при различных сроках запашки пласта трав можно судить по данным общего содержания нитратов в почве (табл. 3) и по интенсивности нитрификации (табл. 4).

Таблица 3

Общее количество нитратов в зависимости от сроков запашки пласта

Почва	Сроки запашки	Нитратный азот в кг на гектар в слое 0—100 см	
		20.IV	3.VIII
Оподзоленный чернозем Верхнячской станции	Июль	155,68	100,43
	Август	100,24	53,17
	Октябрь	70,73	27,65

Таблица 4

Нитрификация в связи со сроками запашки пласта

Почва	Сроки запашки	Количество нитратного азота в мг на 1 г почвы (на гелевых пластинках)		
		1948 г.	1949 г.	
		12.X	17.V	16.VI
Мощный чернозем Ивановской станции	Июль	—	—	22,3
	Август	5,9	15,7	11,3
	Сентябрь	5,3	11,4	10,8
	Октябрь	4,6	9,0	9,3

Сопоставляя эти результаты с данными по содержанию азотобактера в почве при различных сроках запашки пласта (табл. 2), можно отметить, что для азотобактера нужны иные условия окислительно-восстановительного режима почвы, чем для нитрификации.

И не только общее содержание азотобактера в почве, но также его азотфиксирующая способность изменяются по тем же закономерностям. Создается впечатление, что азотобактер, выделенный из почвы, обогащенной органическими соединениями, обладает также и более высокой азотфиксирующей способностью (табл. 5).

Таблица 5

Азотфиксирующая способность азотобактера, выделенного из почвы по различным предшественникам

Почва	Культура	Предшественник	Дата анализа	Общий азот в мг за 10 суток на чашку	
				из почвы вне ризосферы	ризосфера
Осолоделая почва Льговской станции	Свекловичные высадки	Пар	5.VI	1,38	—
		Клевер	5.VI	1,74	1,76
		Смесь трав	5.VI	2,96	3,28
		Пар	18.VII	1,49	1,72
		Клевер	18.VII	1,76	2,35
		Смесь трав	18.VII	2,03	3,20

Эти данные говорят о том, что, очевидно, окажется целесообразным предварительное культивирование азотобактера для приготовления азотобактерина в условиях, усиливающих его азотфиксирующую способность, что должно повысить эффективность препарата, приготовленного из азотобактера.

Таким образом, приведенные материалы позволяют сделать вывод о том, что жизнедеятельность азотобактера неразрывно связана с наличием в почве органических веществ и сосредоточивается в зонах с низким окислительно-восстановительным потенциалом. Такими зонами являются: зоны скопления органических веществ, зоны ризосферы культурных растений [9] и нижележащие горизонты почвы, если последние содержат органические соединения.

Для примера приведем результаты исследований азотфиксации и нитрификации на осолоделых почвах Льговской опытно-селекционной станции (табл. 6).

В табл. 6 приведены результаты исследований азотфиксации и нитрификации на осолоделых почвах Льговской станции по вариантам с различными дозами навозного удобрения. Как видно из этих данных, процесс нитрификации в подпахотных и нижележащих горизонтах резко снижается, тогда как процесс азотфиксации в нижележащих горизонтах осолоделой почвы не только не снижается, а даже несколько повышается. Если ограниченный доступ кислорода воздуха в нижележащие горизонты подавляет процессы нитрификации, то это, как видим, не отражается на процессе азотфиксации и даже несколько стимулирует его. Азотфиксирующая способность азотобактера в вариантах с навозом повышается (по сравнению с контролем) как в пахотных горизонтах, так и особенно резко в подпахотном горизонте. Обогащение почвы органическими веществами стимулирует азотфиксирующую способность азотобактера двояко: увеличивается содержание органических соединений, необходимых как пластический и энергетиче-

Микробиологическая характеристика почв различных горизонтов

Почва	Культура	Удобрения	Показатели	Азотобактер в см					Показатели	Нитрификация в см				
				0—25	25—40	40—60	60—80	80—100		0—25	25—40	40—60	60—80	80—100
Осолоделая почва Льговской опытно-селекционной станции	Овес	Без удобрений	% проросших комков через 10 суток	92	93	88	98	100	% зон просветлений через 30 суток	63	35	9	5	6
			N общий по Кьельдалю за 10 суток на чашку	1,50	1,09	1,66	2,43	1,28	N нитратный в мг на чашку через 30 суток	1,38	0,34	0,08	Нет	следы
		25 т навоза	% проросших комков через 10 суток	88	97	97	87	90	% зон просветлений	68	2	3	0	14
			N общий по Кьельдалю за 10 суток на чашку	1,50	2,52	1,71	2,22	1,87	N нитратный	1,88	Нет	следы	Нет	1,22
		45 т навоза	% проросших комков через 10 суток	—	100	100	84	92	% зон просветлений	60	14	21	9	13
			N общий по Кьельдалю за 10 суток на чашку	1,61	2,29	2,26	1,63	2,40	N нитратный	1,22	0,19	0,12	0,08	0,13

ский материал для его жизнедеятельности, и также изменяется окислительно-восстановительный режим почвы. По тем же причинам органо-минеральная система удобрений стимулирует жизнедеятельность азотобактера в большей степени, чем минеральная система удобрений, ибо в первом случае в почву вносятся также органические вещества (табл. 7).

Таблица 7

Влияние удобрений на содержание азотобактера в почве

Почва	Культура	Удобрение	Дата анализа	Азотобактер (% проросших комков)	
				пахотный	подпахотный
Мощный слабовыщелоченный чернозем Рамонской станции	Озимая пшеница	Минеральные . . .	9.V	31	31
		Органо-минеральные	9.V	42	39
	Сахарная свекла	Минеральные . . .	6.VI	0	2
		Органо-минеральные	6.VI	65	48
		Минеральные . . .	2.VIII	10	4
		Органо-минеральные	2.VIII	41	39
Слабоподзоленная почва Верхнячской станции	Озимая пшеница	Минеральные . . .	13.V	54	—
		Органо-минеральные	13.V	65	—
		Минеральные . . .	25.VII	42	—
		Органо-минеральные	25.VII	76	—
	Ячмень	Минеральные . . .	25.VII	33	—
		Органо-минеральные	25.VII	66	—

Навозное удобрение действует в отмеченном направлении в течение довольно длительного периода времени (табл. 8).

Таблица 8

Влияние навоза на азотфиксацию (данные опытов 1940 г.)

Почва	Культура	Удобрение	Азотобактер			
			24.V		11.VII	
			% проросших комков через 10 суток	N общий по Кьельдалю за 10 суток на 1 чашку	% проросших комков через 10 суток	N общий по Кьельдалю за 30 суток на 1 чашку
Осолоделая почва Льговской станции	Вика-овес	Контроль	26	1,04	95	1,57
		20 т навоза под озимь 1938 г. .	32	2,02	98	2,08
	Яровая пшеница	Контроль	28	1,41	82	1,50
		20 т навоза под озимь 1937 г. и 25 т навоза в 1940 г. . . .	62	2,85	97	1,72

Таким образом, вышеизложенные результаты исследований позволяют утверждать что жизнедеятельность азотобактера в почве и его азотфиксирующая способность связаны с наличием в почве органических соединений с низким окислительно-восстановительным потенциалом. При бурном аэробном разложении органических остатков азотфиксирующая способность почвы понижается вследствие быстрой минерализации органического субстрата и повышения окислительно-восстановительного потенциала, что тормозит процесс азотфиксации культурой азотобактера.

Тем самым развиваемые Федоровым представления о механизме азотфиксации азотобактером оказываются приемлемыми для объяснения динамики азотобактера в почве травопольного севооборота. Эти же положения позволяют объяснить тот факт, что в нижележащих горизонтах осолоделых почв азотфиксирующая способность не понижается, несмотря на ограниченный доступ кислорода.

Необходимо поэтому при практическом использовании бактериальных препаратов азотобактера учитывать также и окислительно-восстановительный режим почвы, имея в виду, что при высоком окислительно-восстановительном потенциале процесс азотфиксации резко подавляется.

Выводы

1. Динамика азотобактера и его азотфиксирующей способности в почве травопольного севооборота зависит от наличия в почве органических соединений, создающих низкий окислительно-восстановительный потенциал. По мере минерализации подобных соединений в почве содержание азотобактера и его азотфиксирующая способность понижаются.

2. Наиболее благоприятные условия для азотобактера создаются по травосмеси и в первые годы после запашки пласта многолетних трав.

3. Органические удобрения повышают азотфиксацию почвы, и их применение может рассматриваться как прием стимулирования азотобактера и повышения его эффективности.

4. Производственные штаммы азотобактера целесообразно выделять из травопольных севооборотов по наилучшим предшественникам, активирующим их жизнедеятельность.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сахарной свеклы
Киев

Получено 15. XI. 1949 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вильямс В. Р. Почвоведение. Сельхозгиз. 1936. № 2.
2. Геллер И. А. Окислительно-восстановительные свойства ризосферы. Сб. научных работ по агрохимии, почвоведению и сельскохозяйственной микробиологии. Стр. 188, Киев, 1948.
3. Красильников Н. А. Микрофлора ризосферы и ее влияние на рост и урожай растений. Химизация соц. земледелия, № 7, 36, 1940.
4. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. М.— Л. 1935.
5. Рубенчик Л. И. Використання мікробів для підвищення врожайності сільськогосподарских рослин. Київ, 1945.
6. Рудаков К. И., Шелоумова А. М., Доросинский Л. М., Лопатина Г. В. и Абросимов С. А. Бактериальные удобрения. Москва, Сельхозгиз, 1938.
7. Турчин Ф. В. Об удобрительной ценности препаратов азотобактера. Почвоведение № 6, 254, 1944.
8. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Москва, Сельхозгиз, 1948.
9. Федоров М. В. Влияние аскорбиновой кислоты на фиксацию азота атмосферы азотобактером. ДАН СССР, 66, № 5, 945, 1949.

ОБРАЗОВАНИЕ МИКОРИЗЫ У ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ[1]

Ядв. Стржемская

Целью работы явилось изучение образования микоризы у хлебных растений в зависимости от характера почвы, ее реакции, а также от стадии развития этих растений.

В настоящее время закончены исследования по овсу, составляющие первую часть работы. Характер собранного в течение весны и лета 1948 г. материала, рост и сроки его сбора указаны в следующей таблице.

№ пп.	Местность	Почва	pH почвы (опред. в вытяжке с KCl)	Фазы развития растения		
1	Пулавы	Подзол легкий	7,0	I	II	III
2	Жердь (у. Пулавский)	Лёсс	5,0—6,3	I	II	III
3	Гарбов (у. Пулавский)	„	7,0—8,0	I	II	III
4	Конская Роля (у. Пулавский)	„	6,6	—	II	—
5	Гостиное (у. Грубешовский)	„	8,0	I	—	—
6	Холм (опытн. станция)	„	8,0	—	II	—
7	Грубешов	Чернозем	8,0	—	II	—
8	Вжецов (у. Пулавский)	Песчаная	5,5—6,5	I	II	III
9	Осины (у. Пулавский)	Глубокие пески	4,0—4,8	I	II	III

Примечание. I — кущение растений, II — период колошения или цветения, III — период зрелости.

В общем взято 20 проб корней овса. Из каждой пробы для исследования отбирались корни согласно схеме, указанной на рис. 1.

Из боковых корней каждого из указанных отрезков делалось по три микротомных препарата — из двух корней в поперечном разрезе и с одного корня в продольном разрезе.

Препараты окрашивались по методу Stoughton.

В общем исследовано 240 препаратов, причем было сделано много рисунков и снимков.

Результаты исследований

Микроскопические исследования вышеописанного материала показали следующее.

1. Возникновение микоризы у овса является распространенным явлением. Проведенные автором исследования приводят к выводу, что оно не зависит от характера почвы и от величины pH (наблюдается в пределах pH от 5,0 до 8,0).

Незначительное образование микоризы найдено только на одной песчанистой почве с pH = 4,0—4,8.

Исследование большого количества проб овса с песчаных почв должно выяснить влияние этих почв, имеющих сильно кислую реакцию, на возникновение микоризы.

2. Инфекция корней овса микоризными грибами происходит через корневые волоски аналогично заражению корней мотыльковых растений бактериями, находящимися в симбиозе с ними.

[1] Работа представляет автореферат, переведенный с польского языка А. Ф. Войткевичем.

3. Развитие микоризы усиливается с возрастом растения. Наибольшего развития она достигает в стадии зрелости растения.

4. Микориза овса является типичной эндотрофной. Растворение мицелия грибов начинается в клетках корня уже в стадии кущения этого растения и протекает в течение всего вегетационного периода.

5. Микориза обнаруживается у овса во всех боковых корнях (рис. 1, *a, b, c*) и во всех придаточных корнях (рис. 1, *d*).

Микориза таким образом поражает всю корневую систему.

Всего сильнее микориза развивается в боковых корнях среднего и нижнего отрезков (рис. 1, *b, c*).

6. Все корни овса, инфицированные микоризными грибами, согласно наблюдениям автора, имеют правильное анатомическое строение (за немногими исключениями).

В то же время корни, в которых не было найдено микоризы, всегда были деформированы и имели многочисленные выпячивания.

Деформирована также форма клеток корня, особенно клеток эпидермиса, которые образуют удлиненные выпячивания или имеют волнистые очертания (рис. 2).

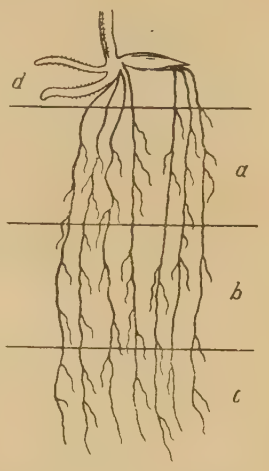


Рис. 1. Схема корневой системы овса, разделенная на четыре отрезка.

a — боковые корни верхнего отрезка; *b* — боковые корни среднего отрезка; *c* — боковые корни нижнего отрезка; *d* — придаточные корни

В связи с этими данными можно высказать предположение о том, что корни без микоризы значительно увеличивают свою общую поверхность, что при наличии микоризы является излишним.

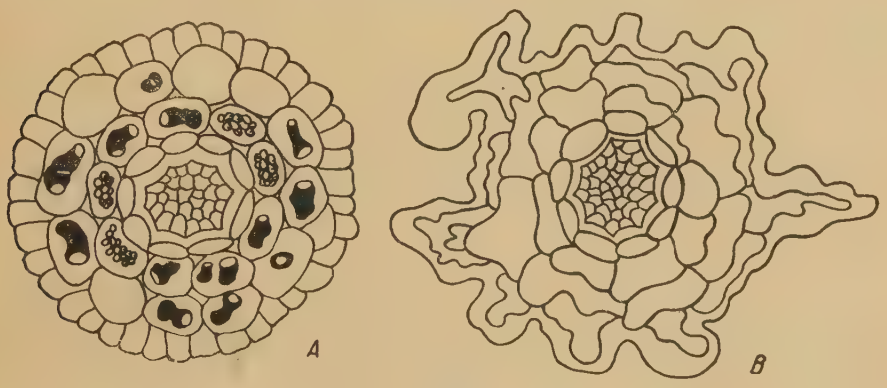


Рис. 2. Схема отростка корня в поперечном разрезе.

A — корень с микоризой; *B* — корень без микоризы

Описанное явление, по наблюдениям автора, не зависит от характера почвы и величины ее pH, а также от возраста растения.

Более детальное описание микоризы у овса будет дано в отдельной статье.

Государственный научный институт
сельского хозяйства
Пулавы

Получено 4. VIII. 1949 г.

ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА МОРФОЛОГИЮ И ФИЗИОЛОГИЮ МИКРОБОВ

IV. ВЛИЯНИЕ ГРАМИЦИДИНА С НА ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ СТАФИЛОКОККОВ И КАРТОФЕЛЬНОЙ ПАЛОЧКИ

Н. В. Крупин

Вызывать лизис эритроцитов могут главным образом патогенные для человека и животных микробы. Однако это свойство встречается и у сапрофитов.

Как известно, бактериальный гемолиз обусловливается действием на эритроциты особых веществ, называемых гемолизинами. Медицинская микробиология рассматривает бактериальные гемолизины как одну из разновидностей токсинов. С общемикробиологической же точки зрения это — ферменты, относящиеся, по мнению Омелянского, к группе протеаз.

В последнее время взгляды медицинской и общей микробиологии на природу бактериальных гемолизинов в значительной степени сблизились. Дело в том, что новейшие исследования в области биохимии микробов дают основание считать, что все бактериальные токсины по механизму своего действия являются веществами ферментного характера и что все вызываемые ими в организме патологические процессы в основном представляют собой своеобразные, необычные для здоровых тканей ферментативные реакции.

С этой точки зрения и бактериальные гемолизины можно, с известной долей вероятности, рассматривать как ферменты, которые у патогенных бактерий играют роль гемотоксинов.

Занимаясь изучением влияния грамицидина С на ферментные системы бактерий, мы в данном случае исследовали влияние этого препарата на гемолитическую функцию бактерий, как одну из форм их ферментативной деятельности.

Исследования велись в двух направлениях.

Во-первых, изучалась способность гемолизирующих бактерий вызывать разрушение эритроцитов в средах, содержащих различные количества грамицидина С, т. е. изучалась активность бактериальных гемолизинов в присутствии этого препарата.

Во-вторых, изучалась способность бактерий сохранять гемолитические свойства при культивировании их в течение некоторого времени на средах, содержащих суббактериостатические дозы грамицидина С. Таким образом, определялась устойчивость гемолитической функции бактерий к более или менее продолжительному воздействию на них грамицидина С.

Для выяснения первого вопроса шесть культур B. mesentericus и семь культур гемолитического стафилококка многократно выращивались на мясопептонном агаре, содержащем 5% дефибринированной крови и от 6 до 100 гамм грамицидина в 1 мл среды.

Контроль — посевы тех же микробов на кровяном агаре без грамицидина. Рост микробов и наличие или отсутствие гемолиза учитывались через 24 и 48 часов после посева.

Все взятые нами в опыт культуры B. mesentericus обладали резко

выраженными гемолитическими свойствами и при росте на кровяном агаре без грамицидина давали обширную зону гемолиза.

На кровяном агаре с грамицидином они хорошо росли в присутствии 25 и даже 50 гамм этого препарата в 1 мл среды. Рост их полностью задерживался, как правило, лишь при наличии в 1 мл агара 100 гамм грамицидина. Однако гемолитические свойства B. mesentericus в присутствии грамицидина С существенно изменялись. Гемолиз в этих условиях явно задерживался, несмотря на одинаковый с контролями или лишь слегка ослабленный рост микробов.

В публикуемой здесь таблице мы приводим в качестве примера результаты нескольких опытов с культурами B. mesentericus (см. первую часть таблицы).

Таблица

Влияние грамицидина С на гемолитическую активность B. mesentericus и стафилококков

Культура		Содержание грамицидина в гаммах в 1 мл среды и наличие гемолиза											
		через 24 часа						через 48 часов					
		0	6	12	25	50	100	0	6	12	25	50	100
Bac. mesentericus	10	+++	++	—	—	—	·	+++	+++	+++	—	—	·
	45	—	—	—	—	—	·	+++	+++	+++	—	—	·
	67	++	++	—	—	—	·	+++	++	+++	+++	—	·
	83	+++	+++	—	—	·	·	+++	+++	+++	—	—	·
	87	++	—	—	—	·	·	+++	+++	+++	—	—	·
	93	+++	++	—	—	—	·	+++	+++	+++	—	—	·
Стафилококки	101	+++	+++	+++	++	·	·	+++	+++	++	+++	·	·
	102	+++	+++	+++	+++	·	·	+++	+++	+++	+++	·	·
	103	+++	+++	+++	++	·	·	+++	+++	++	+++	+++	·
	104	+++	+++	+++	++	·	·	+++	+++	+++	+++	—	·
	106	+++	+++	+++	++	—	·	+++	+++	+++	+++	+++	·

Примечание. +++, ++ означают различные степени гемолиза; — отсутствие гемолиза при наличии роста; · — отсутствие роста микробов.

Как видно из этой таблицы, суточные культуры B. mesentericus вызывали гемолиз только на агаре, содержащем не более 6 гамм грамицидина в 1 мл среды и то не во всех опытах. При этом нередко гемолиз в этих случаях был выражен слабее, чем в контролях. В присутствии же 12 и больше гамм грамицидина в 1 мл среды гемолиза не было, несмотря на нормальный рост бактерий.

После двухсуточной инкубации посевов в термостате картина несколько изменялась. К этому времени гемолиз появлялся и на агаре, содержавшем 12 гамм грамицидина в 1 мл среды, но при 12 и 50 гаммах он попрежнему, за редкими исключениями, отсутствовал.

Приведенные материалы, по нашему мнению, с достаточной убедительностью говорят о том, что грамицидин С оказывает задерживающее действие на гемолитическую функцию B. mesentericus. При этом такое действие обусловливается не ослаблением роста микробов под влиянием относительно высоких концентраций грамицидина, а связано с действием грамицидина на гемолиз как таковой. Рост микробов был достаточно обильным и в тех посевах, где гемолиза не наблюдалось.

Хотя наши опыты не всегда давали такие демонстративные результаты, как приведенные в таблице, однако ни один из них не противоре-

чил вышеуказанному положению о задерживающем действии грамицидина С на гемолитическую функцию B. mesentericus: наоборот, все они в той или другой степени подтверждали его.

Аналогичные опыты с семью культурами гемолитических стафилококков (три золотистых и четыре белых) дали совершенно другие результаты.

Грамицидин С лишь в единичных случаях задерживал гемолитическое действие стафилококков. При этом данное явление было выражено очень слабо и имело непостоянный характер даже у одного и того же штамма. Материалы, приведенные во второй части таблицы, подтверждают это положение. Они показывают, что при всех посевах стафилококков на кровяной агар с грамицидином всюду, где был рост, был и гемолиз.

Лишь в суточных культурах стафилококков наблюдалась частичная задержка гемолиза на агаре, содержавшем 25 гамм грамицидина в 1 мл среды. Но через 48 часов это явление уже исчезало. В абсолютном большинстве опытов со стафилококками лизис эритроцитов прекращался одновременно с прекращением роста культуры, в то время как у B. mesentericus гемолитическая функция подавлялась значительно раньше, чем приостанавливалось размножение.

Таким образом, гемолитическая функция стафилококков, в отличие от таковой у B. mesentericus оказалась очень мало чувствительной к грамицидину С. Это дает основание предполагать, что последний не может подавлять гемотоксическое действие патогенных стафилококков.

Вторая часть наших исследований, направленная на выяснение вопроса о способности микробов сохранять гемолитические свойства при более или менее длительном контакте их с грамицидином, заключалась в следующем.

Стафилококки и B. mesentericus засевались в ряд пробирок, содержавших возрастающие количества грамицидина. Через сутки из них отбирались пробирки с частичной задержкой роста, т. е. пробирки с суббактериостатическими дозами грамицидина.

Такие пробирки снова помещались в термостат, и из них ежедневно в течение семи дней производились высевы на обычный кровяной агар для определения гемолитических свойств микробов. Контролями служили высевы из культур тех же микробов на бульоне без грамицидина. Таким путем выяснялся вопрос, сохраняются ли гемолитические свойства у микробов, находившихся в течение нескольких дней под действием суббактериостатических доз грамицидина С.

Эта серия опытов ставилась с теми же семью культурами стафилококков и двумя культурами картофельной палочки. В ней, так же как и в предыдущей серии, опыты с различными микробами дали различные результаты.

Гемолитическая функция B. mesentericus и при данном варианте исследований оказалась также более лабильной к грамицидину С, чем таковая у стафилококков.

Трехсуточный контакт B. mesentericus с суббактериостатическими дозами грамицидина С при 37° обычно не влиял на гемолитические свойства этих микробов, но высевы культур, находившихся в течение четырех и более дней под действием грамицидина, как правило, уже не вызывали гемолиза.

Наоборот, шесть из семи культур стафилококков полностью сохраняли гемолитические свойства в течение всего опыта. Семидневный контакт с грамицидином не отражался на них в этом отношении. Только одна культура золотистого стафилококка в части опытов теряла гемолитические свойства после четырехсуточного пребывания в среде с грамицидином. Но и у нее это явление не было закономерным.

Описанные опыты привели нас к заключению, что нельзя говорить о действии грамицидина С на бактериальные гемолизины и гемолитиче-

скую функцию бактерий вообще, а что этот вопрос надо рассматривать применительно к отдельным видам или к отдельным группам гемолитических микробов.

На основании имеющихся у нас данных мы пока не можем сказать, от чего зависит различие в действии грамицидина С на гемолитическую функцию различных микробов. Настоящая работа только ставит этот вопрос. В частности, она вновь ставит вопрос о природе и характере гемолизинов у патогенных и сапрофитических микробов. Для разрешения его необходимы дальнейшие исследования.

Выводы

1. Грамицидин С даже в небольших дозах подавляет гемолитическое действие B. mesentericus в опытах с посевами этих микробов на кровяной агар с грамицидином.

2. Гемолитическая активность гноеродных стафилококков в аналогичных условиях оказывается почти совершенно нечувствительной к грамицидину. С.

3. При продолжительном культивировании картофельной палочки в присутствии суббактериостатических доз грамицидина она через 3—4 суток теряет способность лизировать эритроциты. Гемолитическая функция стафилококков и в этих условиях оказывается устойчивой к грамицидину.

4. Разница в действии грамицидина С на гемолитическую функцию картофельной палочки и гноеродных стафилококков позволяет предполагать наличие различий в природе и свойствах гемолизинов у этих микробов и указывает на желательность изучения данного вопроса.

Свердловский медицинский институт

Получено 9. XI. 1949 г.

БАКТЕРИОФАГ В СЫРОДЕЛИИ

III. ЛИЗИРУЮЩЕЕ НАЧАЛО МОЛОЧНОКИСЛЫХ ПАЛОЧЕК

Е. В. Рунов

Наряду с изучением бактериофага молочнокислых стрептококков нами были предприняты исследования литического начала в сыре в отношении молочнокислых палочек.

Методика

В качестве индикаторных форм служили Thermobacterium helveticum и Tbm. lactis. Культура палочек вносилась в две порции стерильного обрата, к одной из которых предварительно добавлялся полученный через фильтр Зейтца фильтрат из сыра — 1 мл на 10 мл молока. Способ получения фильтрата приведен в предыдущей статье [2]. В период развития через короткие промежутки времени из культур контрольных и культур с прибавлением фильтрата готовились мазки. Фиксирование мазков производилось спиртом, окрашивание — метиленовой синью. Критерием действия фильтратов служили: микроскопическая картина, развитие бактерий и кислотообразование. Исследованию подвергалось действие фильтратов, полученных из сыров разных типов — с низким и высоким вторым нагреванием.

Действие фильтратов из сыров с низким вторым нагреванием

Фильтраты из сыров с низким вторым нагреванием не вызывали морфологических отклонений от контроля. В культурах с фильтратом

Таблица 1

Действие фильтратов из разных сыров с низким вторым нагреванием на Tbm. helveticum и Tbm. lactis

Вид сыра	Сыр выработан из молока	Возраст сыра в месяцах	Характер действия фильтратов
Голландский круглый	Сырого	3	Морфологических изменений нет; наблюдается стимуляция развития бактерий и кислотообразования
„ „	„	5	
Голландский брусковый	„	4	
Тильзит	Пастеризованного . .	2	
Ярославский	Сырого	23	
„	Пастеризованного . .	1	
„	„ . .	2	
„	„ . .	3	
„	„ . .	5	

наблюдалась значительная стимуляция развития бактерий и кислотообразования. Между прочим нагревание фильтратов вызывает частичное разрушение веществ, способствующих развитию микроорганизмов.

На рис. 1 и 2 показано влияние ненагретого и нагретого фильтрата из Ярославского сыра (годичного возраста) на развитие и кислотообразование Tbm. lactis. Фильтрат нагревался в кипящей воде пять минут.

Опыт поставлен при 40°. Заражение производилось 1% свежеперевитой культуры. Количество бактерий учитывалось по методу Брида.

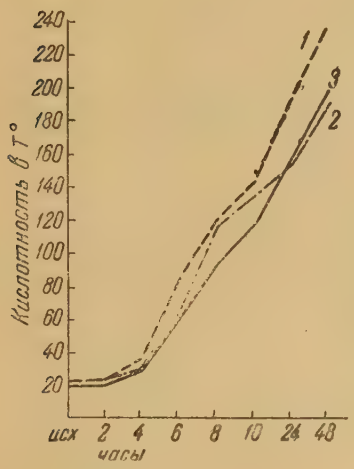


Рис. 1. Действие фильтрата из Ярославского сыра на кислотообразование Tbm. lactis.

1 — фильтрат ненагретый; *2* — фильтрат нагретый; *3* — контроль

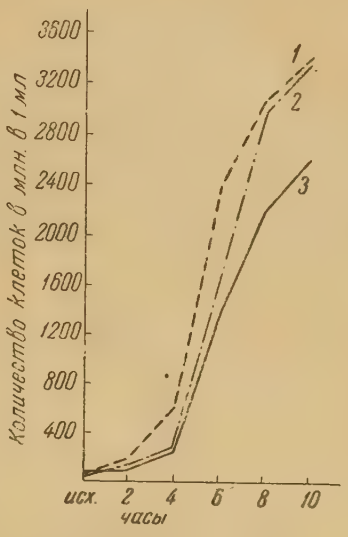


Рис. 2. Действие фильтрата из Ярославского сыра на развитие Tbm. lactis.

1 — фильтрат ненагретый; *2* — фильтрат нагретый; *3* — контроль

Tbm. helveticum дает сходную с Tbm. lactis реакцию на прибавление фильтрата. Стимулирующее влияние фильтратов на молочнокислые палочки особенно ярко проявляется при заражении молока небольшим количеством клеток. Испытанные нами фильтраты из разных сыров вызывали эффект, аналогичный вышеописанному. В табл. 1 приводятся данные действия на молочнокислые палочки фильтратов из различных сыров.

Действие фильтратов из сыров с высоким вторым нагреванием

Исследование фильтратов из ряда сыров с высоким вторым нагреванием — Советского, Швейцарского — показало присутствие в отдельных образцах лизирующего начала к молочнокислым палочкам. Под влиянием фильтратов в культурах возникают резкие морфологические изменения и происходит нарушение нормальной жизнедеятельности бактерий.

Действие лизирующего начала в отношении молочнокислых палочек не является узкоспецифическим. Bact. acidophilum., Bact. bulgaricum (коллекционный (I) и выделенный из сыра (II) штаммы), Streptobacterium casei, Sbm. plantarum, Tbm. helveticum и Tbm. lactis — все более или менее сходно реагируют на присутствие лизирующего фактора в среде.

Морфологические изменения

Под действием лизирующего начала клетки вытягиваются, затем появляются изгибы, петли и в конце концов образуются гигантские закрученные нити, состоящие из отдельных члеников, соединенных между собой слабо окрашенными участками. Одновременно в культурах наблюдается лизис клеток. Указанные изменения, однако, обратимы. Способность к делению у бактерий постепенно восстанавливается и культура может приобретать обычный вид. Скорость превращений и глубина изменений при одних и тех же условиях зависят от концентрации лизирующего начала и вида бактерий.

На рис. 3 представлены морфологические изменения под влиянием лизирующего начала в культуре Tbm. lactis с фильтратом из зрелого Советского сыра. Температура культивирования 37°.

У Tbm. helveticum, как и у Tbm. lactis, лизирующее начало подавляет способность к делению. Клетки растут, удлиняются, извиваются, закручиваются, лизируются. У Tbm. helveticum хорошо заметно закручивание нитей по спирали. При сильном закручивании спиралей возникают штопорообразные гигантские формы.

При распаде гигантских форм завитки спиралей подвергаются дроблению, в результате в культуре сохраняются изогнутые, кольцеобразно закрученные формы (рис. 4).

Рис. 6. Прорастание зерен в начальной стадии ветвления Tbm. lactis

Гигантские формы наблюдаются также и у других видов молочнокислых палочек (Bact. acidophilum, Bact. bulgaricum и стрептобактерий).

Из испытывавшихся нами молочнокислых палочек Tbm. lactis, Sbm. plantarum обладали ясно выраженной зернистостью, остальных же можно было условно отнести к «незернистым» бактериям. В культурах «незернистых» палочек при прибавлении лизирующего начала наблюдалось образование только перекрученных гигантских нитей, в культурах же зернистых палочек наблюдаются при невысоких концентрациях лизина образования и другого порядка, а именно ветвящиеся формы. Они проявляются лучше на обрате с мелом. На рис. 5 показано ветвление Tbm. lactis. Бактерии культивировались на обрате с 6% мела при 37°. Через каждые полчаса из культуры готовились препараты.

Сперва отмечается появление мелких выростов в виде «почек» сбоку и на концах нитей. Размеры выростов постепенно увеличиваются, начинается их ветвление, в итоге это приводит к образованию своеобразных ветвящихся форм с отростками в разные стороны. В таком состоянии бактерии остаются недолго. Ветвящиеся формы довольно быстро распадаются на отдельные клетки. Вначале еще встречаются обломки ветвящихся форм — «рогатые» клетки, но потом и они исчезают.

На вопрос, что служит источником образования выростов, дает ответ рис. 6, представляющий зарисовку нитей в первых стадиях ветвления при увеличении в 1800 раз.

В нитях, как в промежутках между отдельными члениками, так и в

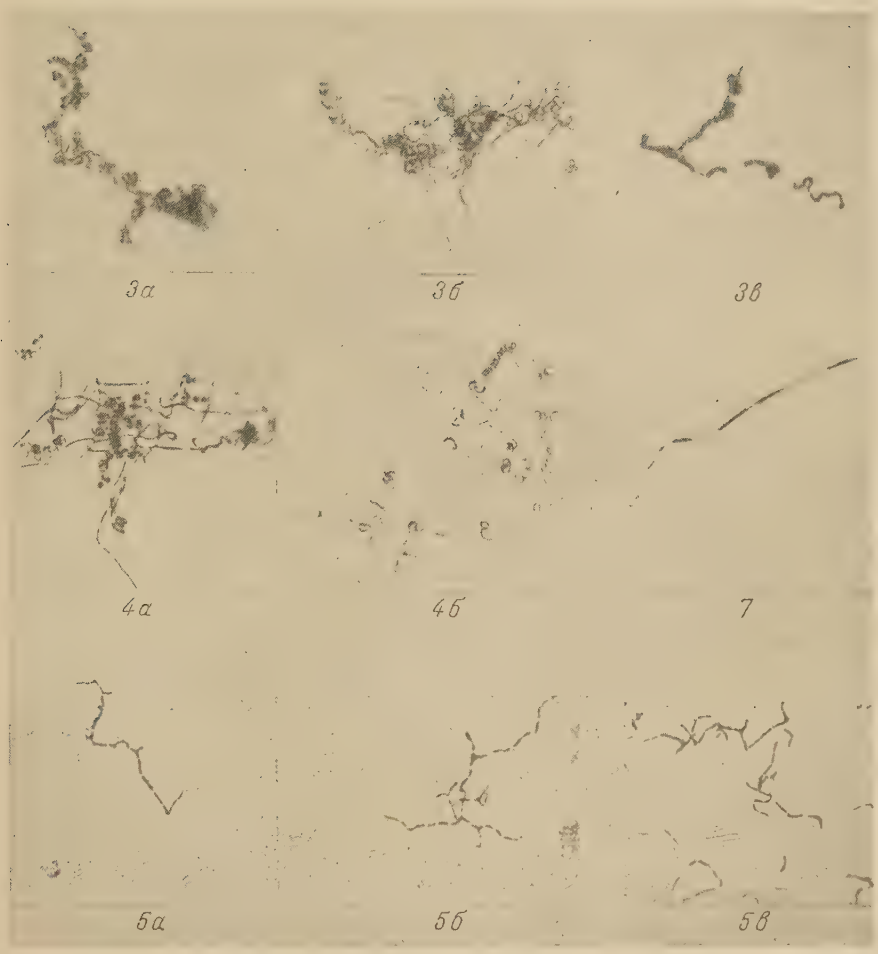


Рис. 3а — 3в. Tbm. lactis.
а — гигантская форма (через 5 ч. 30 м.); *б* — распад гигантских форм на отдельные клетки (через 6 ч. 30 м.); *в* — лизис гигантской формы
Рис. 4а — 4б. Tbm. helveticum.
а — гигантская форма; *б* — культура через 24 часа;
Рис. 5а —5 в. Tbm. lactis.
а — нить с боковыми выростами (через 3 часа); *б* — ветвящаяся форма (через 5 час.); *в* — распад ветвящихся форм на отдельные клетки (через 6 час.)
Рис. 7. Проросшие зерна внутри клетки

отдельных члениках видны прорастающие в боковом направлении зерна. Вначале зерна окрашиваются в темнокрасный цвет, при прорастании же в синий. Вытягиваясь, зерна дают начало веткам.

Рудаков [1] в 1933 г. установил, что зерна у молочнокислых палочек являются органами размножения. В 1939 г. эти наблюдения были подтверждены Скалоном [3]. Характер образования ветвистых форм говорит о репродуктивной роли зерен у молочнокислых палочек. Об этом свидетельствуют и следующие факты.

После распада гигантских форм в культурах зернистых палочек с фильтратом происходит при медленном нарастании кислотности сильное вытягивание клеток. Длина их может достигнуть сотен микрон. Клетки окрашиваются в бледносиний цвет. Зерна в клетках располагаются далеко друг от друга. В это время в самой культуре или при перенесении ее в свежий обрат происходит прорастание зерен внутри клеток. Зерна постепенно вытягиваются, принимают палочковидную форму (рис. 7). Превращение зерен в палочки сопровождается изменением цвета при окрашивании — из темнокрасного в синий. Материнская клетка растворяется, и палочки, возникшие из зерен, начинают самостоятельное существование.

При больших концентрациях лизирующего начала зерна вздуваются, благодаря чему клетки приобретают иногда четкообразный вид. В дальнейшем эти зерна вместе с клеткой подвергаются лизису. Обычно же зерна более стойки, чем сама клетка, при растворении последней они остаются незатронутыми. Надо думать, что зерна несут не только функции воспроизведения, но и защиты. Весьма характерно, что зернистые палочки чрезвычайно долго сохраняют жизнеспособность. Так, например, Tbm. lactis после выдерживания при 35° в течение двух месяцев в обрате с мелом вполне сохраняет свою жизнедеятельность.

Влияние лизирующего начала на автолиз

Под влиянием лизирующего начала автолиз незернистых палочек сильно ускоряется. На рис. 8 показана микроскопическая картина через

Рис. 8. Влияние лизирующего начала на автолиз Tbm helveticum
1 — без фильтрата; *2* — с ненагретым фильтратом; *3* — с нагретым фильтратом

2 суток в культурах Tmb. helveticum в обрате с 6% мела без фильтрата и с внесением нагретого и ненагретого фильтрата. Температуры культивирования 37°. Рисунки представляют собой зарисовки бактерий с помощью рисовального прибора при увеличениии в 900 раз.

По способности автолизироваться зернистые палочки отличаются от незернистых большей стойкостью.

Влияние температуры на морфологические изменения

Ход морфологических изменений под воздействием лизирующего начала связан с температурой. При оптимуме развития по сравнению с более низкими температурами наблюдается ускорение образования и распада гигантских форм.

Устойчивость лизирующего начала к температуре

При нагревании фильтратров лизирующее начало инактивируется. Теплоустойчивость лизирующего начала связана со средой. В молоке оно обладает высокой устойчивостью. Нами была проверена устойчивость лизирующего начала к нагреванию в молочной сыворотке и в молоке. Нагревание производилось в течение 30 минут при температурах от 50 до 100°. Инактивирование лизирующего начала в сыворотке наступает уже при 55°. В молоке же лизирующее начало выдерживает нагревание при 100°. При этом имеет место некоторое ослабление активности.

При комнатной температуре лизирующее начало в фильтратах сохраняется продолжительное время. Фильтраты не теряли активности после пятимесячного хранения.

Влияние лизирующего начала на кислотообразование

Образование молочнокислыми палочками под воздействием лизирующего начала реактивных форм отражает глубокие физиологические сдвиги, происходящие в клетках микробов. Степень изменений зависит от концентрации лизирующего начала. Чем больше в культуре присутствует лизина, приходящегося на одну клетку, тем сильнее сказывается его угнетающее действие.

К регулированию концентрации лизирующего начала в среде можно подойти двояко: 1) путем увеличения содержания фильтрата при одном и том же исходном количестве клеток и 2) путем уменьшения исходного количества клеток при одном и том же содержании фильтрата. В обоих случаях на одну клетку будет приходиться разное количество лизирующего начала.

Изменение концентрации лизирующего начала по второму способу отчетливо выявляет действие различных доз лизирующего начала на молочнокислые палочки. В табл. 2 приводятся данные кислотонакопления в культурах Tbm. helveticum и Tbm. lactis с одинаковым содержанием фильтрата при заражении разным количеством исходной культуры. Опыт поставлен в стерильном обрате при 37°. Фильтрата добавлено

Таблица 2

Действие фильтрата на кислотообразование при разном исходном количестве клеток

Количество исходной культуры Tbm. helveticum в %								Количество исходной культуры Tbm. lactis в %							
2,5		1		0,01		0,0005		2,5		1		0,01		0,0005	
К	Ф	К	Ф	К	Ф	К	Ф	К	Ф	К	Ф	К	Ф	К	Ф
186	222	164	178	160	100	66	34	180	200	174	196	174	170	158	124

Примечание. К — контроль (без фильтрата); Ф — с фильтратом; кислотность в *T*°.

10%. При заражении внесено различное количество культуры — 2,5; 1; 0,01; 0,0005%. Периодически производилось микроскопирование. Кислотность определялась через 30 часов.

При заражении большим числом клеток (2,5—1%) кислотность в культурах выше, нежели в контроле. Снижение числа клеток при заражении приводит к угнетению кислотообразования. Кислотообразование увязывается с микроскопической картиной. Продолжительность стадии

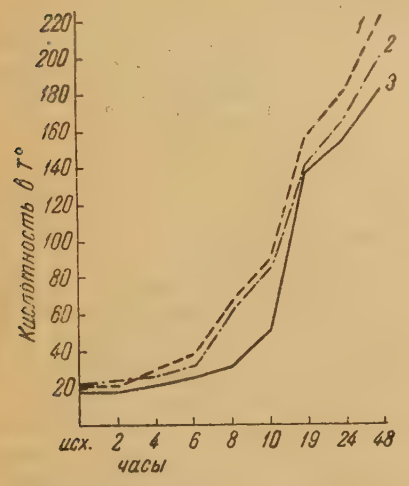


Рис. 9. Действие фильтрата из советского сыра на кислотообразование Tbm. lactis

1 — фильтрат нагретый; *2* — фильтрат ненагретый; *3* — контроль;

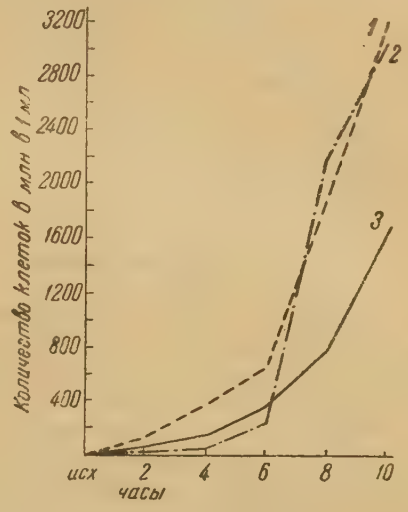


Рис. 10. Действие фильтрата из советского сыра на развитие Tbm. lactis

1 — фильтрат нагретый; *2* — фильтрат ненагретый; *3* — контроль

реактивных форм связана с количеством внесенных клеток. Например, для Tbm. lactis распад гигантских форм на отдельные клетки при заражении 2,5% культуры наступил через 4 часа 30 минут после начала опыта, а при заражении 1% — через 6 часов 30 минут. Таким образом, между концентрацией лизирующего агента и силой его действия на клетку существует прямая зависимость. Малые концентрации лизирующего начала хотя и вызывают образование реактивных форм, но не подавляют заметно жизнедеятельности бактерий.

О том, что при заражении достаточно большим количеством клеток бродильная способность молочнокислых палочек при прибавлении фильтрата резко не нарушается, можно судить по динамике развития и кислотообразования (рис. 9 и 10).

Опыт ставился при 35°. Культуры при заражении внесено 1%. Фильтрата добавлено 10%. Варианты: 1) без фильтрата; 2) с ненагретым и 3) с нагретым фильтратом. Фильтрат нагревался при 100° в течение 5 минут. Количество клеток подсчитывалось по методу Брида. При учете гигантская клетка принималась за одну клетку.

Кислотообразование с ненагретым фильтратом по сравнению с нагретым фильтратом протекало более замедленно, но оно не приостанавливалось с самого начала, несмотря на образование гигантских форм в первые часы. Отсюда можно придти к заключению, что обмен в гигантских формах не прекращается.

При повышенных концентрациях лизирующего начала депрессия кислотообразования может быть весьма значительной и длительной (табл. 3).

Таблица 3

Влияние повышенной концентрации лизирующего начала на кислотообразование

Культура	Кислотность (T°)				Примечание
	через 17 часов		через 42 часа		
	контроль	+ фильтрат	контроль	+ фильтрат	
Bact. acidophilum . .	154	20	210	140	На 1 мл молока вносилась 1 петля культуры. Температура культивирования — 35°.
Bact. bulgaricum . .	160	34	230	125	
Tbm. lactis	82	30	150	122	

Воспроизводимость лизирующего начала

Лизирующее начало к молочнокислым палочкам воспроизводимо. Мы провели ряд опытов с многократными пассажами лизирующего начала. Источником лизирующего начала являлись сыры — Советский и Швейцарский, подсырная сыворотка, взятая из сборного резервуара.

Навеска сыра растиралась с водой. Отношение сыра к воде — 1 : 2. Сырная болтушка фильтровалась через бумажный фильтр. Фильтрат (2%) вносился в стерильный обрат, который заражался молочнокислыми палочками (одна капля культуры на 50 мл обрата). Колбы выдерживались при 35° 3—5 суток. Образовавшийся сгусток разбивался. Сыворотка отфильтровывалась через бумажный фильтр. Фильтрат (2%) вносился в стерильный обрат, подвергался нагреванию при 70° 30 минут. После охлаждения производилось заражение палочками и колбы выдерживались при 35° до 10 суток. Таким способом осуществлялись дальнейшие пересадки.

Лизирующее начало в сыворотке сильно адсорбируется асбестовыми фильтрами. Для обеспложивания сыворотки, вместо фильтрования через фильтры Зейтца, мы применили нагревание в молоке, что дает, как мы убедились по предварительным опытам, вполне удовлетворительные результаты. Сыворотка после каждого пассажа испытывалась по нескольким культурам молочнокислых палочек на наличие в ней лизирующего начала. 5—10 капель сыворотки вносились в 10 мл обрата, который подвергался нагреванию при 70° 30 минут. После заражения (одной петлей) культуры выдерживались при 35°. Одновременно ставились контрольные культуры. Периодически готовились препараты для микроскопирования, в конце опыта определялась кислотность. Определение титра лизирующего начала производилось на стерильном обрате по методу разведений. После внесения применялось нагревание при 70° 30 минут. О присутствии лизирующего начала в тех или других разведениях свидетельствовало изменение микроскопической картины во времени по сравнению с контролем.

С культурой Tbm. helveticum было сделано 6 пассажей лизирующего начала из Советского сыра, 6 и 12 пассажей из двух образцов Швейцарского сыра и 14 пассажей из подсырной сыворотки. Лизирующее начало накапливалось при пассажах, титр его, однако, не превышал 10^{-3}. В нескольких пересадках вносилась только одна капля сыворотки на 50 мл обрата и в этих случаях также наблюдалось накапливание лизирующего начала.

Кроме пассажей с Tbm. helveticum, производились пересадки с Bact. bulgaricum. Результаты получились идентичными с вышеописанными.

Лизирующее начало после пересадок не приобретает узкой специфичности. Оно действует на различные молочнокислые палочки. На молочнокислые стрептококки лизирующее начало действия не оказывает (табл. 4).

Таблица 4

Влияние пассированного лизирующего начала на кислотообразование

Культура бактерий	Кислотность (*T*°)		Примечание
	контроль	+ фильтрат	
Bact. acidophilum	172	111	Фильтрат 12-го пассажа. Tbm. helveticum. Кислотность определялась через 20 часов.
Bact. bulgaricum I	156	105	
„ „ II	123	28	
Sbm. casei	84	22	
„ plantarum	69	27	
Tbm. helveticum	52	33	
„ lactis	98	30	
Str. lactis	93	105	

Для определения возможности накопления лизирующего начала при пассировании сыворотки из-под культур без первоначального внесения лизирующего начала было сделано пять пересадок. Tbm. helveticum. Испытание на присутствие лизирующего начала в фильтратах дало отрицательные результаты (табл. 5).

Таблица 5

Влияние пассированного фильтрата из-под культуры на кислотообразование

Культура бактерий	Кислотность (*T*°)		Примечание
	контроль	+ фильтрат	
Bact. bulgaricum I	178	180	Фильтрат 5-го пассажа. Кислотность определялась через 21 час.
„ „ II	120	138	
Tbm. helveticum	50	62	
„ lactis	114	120	

Распространенность лизирующего начала в сырах

Лизирующее начало к палочкам обнаруживается не во всех сырах. Выше уже указывалось, что в испытанных нами сырах с низким вторым нагреванием не удалось установить присутствие лизирующего начала. В сырах с высоким вторым нагреванием оно встречается далеко не всегда. В табл. 6 приводятся данные действия фильтратов из разных образцов зрелых сыров — Советского и Швейцарского — на различные молочнокислые палочки. Плюсами отмечена сила действия лизирующего начала, минус означает отсутствие действия. Оценка производилась по характеру морфологических изменений в процессе развития культур.

Кроме сыров, лизирующее начало мы обнаружили в подсырной сыворотке из сборного резервуара, несколько раз в производственной закваске молочнокислых палочек.

Таблица 6

Действие фильтратов из Советского и Швейцарского сыров на молочнокислые палочки

Вид сыра	Bact. acidophilum	Bact. bulgaricum I	Bact. bulgaricum II	Sbm. casei	Sbm. plantarum	Tbm. helveticum	Tbm. lactis
Советский	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
»	—	—	—	—	—	—	—
»	—	—	—	—	—	—	—
»	+	++	++	+	+	++	+++
»	+	—	—	++	+	—	++
»	—	—	—	—	—	—	—
Швейцарский	++++	+++	++++	++++	++++	+++	++++
»	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
»	++++	+++	+++	++++	+++	++++	+++
»	—	—	—	—	—	—	—
»	—	—	—	—	—	—	—
»	—	—	—	—	—	—	—
»	—	—	—	—	—	—	—
»	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
»	—	—	—	—	—	—	—
»	+	+	++	+	+	+	++
»	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. +, ++, +++, ++++ — сила действия лизирующего начала; — отсутствие действия.

Выводы

1. Исследованиями установлено присутствие в сыре лизирующего начала в отношении молочнокислых палочек.

2. Под влиянием лизирующего начала возникают гигантские закрученные формы и наблюдается разрушение клеток. У зернистых палочек лизирующее начало вызывает также образование ветвистых форм, путем прорастания зерен в разных направлениях. Прорастание зерен имеет место и внутри клеток. Образование реактивных форм — явление временного порядка. При восстановлении функции деления они распадаются на отдельные клетки.

3. В присутствии лизирующего начала автолиз клеток ускоряется. Высокие концентрации лизирующего начала вызывают резкое и длительное подавление кислотообразования.

4. Устойчивость лизирующего начала к нагреванию зависит от среды. В фильтратах оно мало устойчиво, в молоке же обнаруживает высокую устойчивость.

5. Лизирующее начало в отношении молочнокислых палочек не обладает узкой специфичностью, на молочнокислые стрептококки оно не действует. Лизирующее начало обладает способностью перевиваться и накопляться — свойствами, общими с бактериофагом.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сыродельной промышленности
Углич

Получено 25. XI. 1949 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рудаков К. И. О цикле развития молочнокислых палочек. Микробиология, II, 57, 1933.
2. Рунов Е. В. Распространенность стрептококкового бактериофага в сырах. Микробиология, XVIII, 174, 1949.
3. Скалон И. С. Морфологические и физиологические изменения молочнокислых бактерий в связи с их развитием. Микробиология, VIII, 721, 1939.

АЭРОБНЫЕ КИСЛОТОРАЗРУШАЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ЛЬНЯНОЙ МОЧИЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

А. Л. Бычковская

Предыдущие исследования [1, 2] подтвердили имевшиеся в литературе указания [9, 10] на то, что биологическая регенерация льняной мочильной жидкости, основанная на разрушении органических кислот микроорганизмами, может протекать по двум типам — аэробному и анаэробному. Было установлено, что оба типа регенерации довольно резко различаются между собой микрофлорой и биохимизмом. В то время как основными возбудителями анаэробного сбраживания кислот являются метанообразующие бактерии, аэробное разрушение кислот осуществляется сложным комплексом микроорганизмов, принадлежащих к различным физиологическим группам. Краткое описание качественного состава этого комплекса и дается в настоящей статье.

Bredemann и Werner [11], изучавшие разрушение маслянокислых солей микроорганизмами, пользовались для выделения последних агаром, приготовленным на отбродившей после маслянокислого брожения жидкой среде, с добавлением аспарагина или пептона с мясным экстрактом. Маркова [8], следуя методу названных авторов, применяла агар, приготовленный на мочильной жидкости после мочки льна с мелом, с добавлением пептона или $(NH_4)_2SO_4$. Агар Марковой применялся нами в следующей модификации: кислая мочильная жидкость после обычной мочки нейтрализовалась пятиминутным кипячением с 0,5% мела и отстаивалась, после чего к осторожно слитой с осадка жидкости добавлялось 0,1% NH_4Cl (органический азот не вносился во избежание дополнительного источника углерода). Так как нейтральный мочильный агар, как показали исследования [1], не выявляет всего комплекса кислоторазрушающих микроорганизмов, то наряду с ним применялся также кислый мочильный агар, готовившийся на неподщелоченной мочильной жидкости с прибавлением 3% агара и 0,1% NH_4Cl. Колонии активных микроорганизмов узнаются на нейтральном агаре по появлению на них кристаллов $CaCO_3$, а на кислом — по побурению среды в зонах роста. Чистые культуры изолировались отсевами в жидкую среду того же состава. Материалом для изолирования культур служили образцы мочильной жидкости и ила, взятые из водоемов для регенерации (колхозных мочил и заводского регенератора).

Регенерация кислой мочильной жидкости в условиях затрудненного доступа воздуха протекает весьма медленно. Из литературы известно [5, 9], что можно значительно ускорить процесс внесением нейтрализующих соединений и усилением аэрации. Отработанная кислая мочильная жидкость при pH = 4—4,5 содержит 0,2—0,5% летучих жирных кислот. Из этого количества около половины (40—60%) находится в связанном состоянии. Таким образом, медленные темпы регенерации обусловлены не отсутствием в жидкости связанных кислот, а неблагоприятной активной кислотностью и затрудненным доступом воздуха. В этих условиях, как показали исследования [1], аэробное разрушение кислот начинается группами микроорганизмов, приспособленными к кис-

лой реакции среды. Они представлены несколькими дрожжевидными и немногими бактериальными видами. Общим для них признаком является резко выраженная склонность к аэробиозу и связанная с этим преимущественная локализация в поверхностных слоях жидкости. Когда реакция жидкости достигает значений pH = 6,5—7, становится активной другая группировка микрофлоры, чрезвычайно пестрая по качественному составу. Происходящая таким образом смена микрофлоры тем резче выражена, чем ниже исходное значение pH. Вторая, более поздняя группировка микрофлоры, продолжая разрушение летучих кислот, может довести реакцию до резко щелочных значений (pH = 8,5—9). Переходим к перечислению качественного состава каждой из этих группировок.

Микрофлора, разрушающая летучие жирные кислоты в условиях кислой среды, состоит из дрожжевидных и бактериальных форм. Дрожжевидные формы включают в себя следующих представителей.

1. Оидиальные формы типа Oidium lactis. На поверхности мочильной жидкости образуют довольно массивную, беловатую, позже грязноватую пленку; при pH выше 7 плохо растут и кислот не разрушают; широко распространены в мочильной жидкости и в илах.

2. Дрожжи типа Torula — мелкие круглые дрожжи с жировой каплей в центре клетки. На мочильной жидкости растут с образованием слабой мути и осадка, а позже — нежной паутинистой пленки; на плотной среде растут в виде грязнобелого мягкого блестящего налета. Некоторые штаммы сбраживают глюкозу и мальтозу, но большинство культур относится к небродящим формам; летучие кислоты мочильной жидкости разрушают несколько медленнее, чем Oidium; широко распространены в жидкости и в илах.

3. Дрожжи типа Mycoderma — типичные пленчатые дрожжи, образующие на мочильной жидкости характерную матовую, сухую, белую, слегка морщинистую пленку, наползающую на стенки; сахаров не сбраживают; по энергии кислоторазрушения не уступают Oidium; часто встречаются и в жидкости и в илах.

4. Дрожжи типа Saccharomyces — крупные, слегка вытянутые. На мочильной жидкости растут медленно с образованием слабой мути, осадка и позднее слабой сероватой пленки; появление спор в единичных клетках отчетливо наблюдалось в старых культурах на кислом мочильном агаре; сбраживают глюкозу, сахарозу и мальтозу; летучие кислоты мочильной жидкости разрушают медленно и неполно; встречаются значительно реже предыдущих форм.

Бактериальные формы относятся к двум группам.

1. Мелкие коккобактерии, образующие на мочильной жидкости нежную, всползающую на стенки пленку, легко опадающую на дно; колонии на кислом мочильном агаре белые, перламутрового вида; на скошенном агаре рост точечный; на мясопептонных средах не растут; молоко не изменяют; на сахарах дают умеренный рост без образования кислот или щелочи. Эти организмы хорошо растут на пивных средах; энергично разрушают свободную уксусную, масляную и молочную кислоты; энергично окисляют этиловый спирт в уксусную кислоту; если исходная концентрация спирта ниже 1%, то накопления уксусной кислоты не происходит; при хранении на плотных средах быстро теряют жизнеспособность. Из лабораторных мочек мелкие коккобактерии ни разу не были выделены; они широко распространены в мочильной жидкости производственного происхождения; из илов выделяются при условии высева свежевзятого материала; по комплексу морфолого-культуральных признаков они близки к группе уксуснокислых бактерий, в частности — к виду Acetobacter ascendens (по Bergey).

2. Полиморфные палочки с обильным слизеобразованием. На мочильной жидкости образуют объемистую, слизистую,

часто тягучую пленку; колонии крупные, блестящие, слизистые, без пигментации; клетки в молодом возрасте подвижные, крупные (до 5 μ), часто слегка изогнутые, с закругленными концами, с течением времени клетки значительно укорачиваются (до 2 μ), становятся яйцевидными и в фиксированном препарате обнаруживают как бы пустую середину; эти организмы на мясопептонных средах дают слабый рост; энергично разрушают молочную, уксусную и масляную кислоты; в лабораторных условиях довольно быстро вырождаются; в свежевыделенном состоянии по комплексу признаков весьма напоминают так называемых несовершенных миксобактерий, описанных Имшенецким и Солнцевой [4]. Для окончательной идентификации нуждаются в более тщательном изучении цитологии и цикла развития; из илов ни разу не были выделены; распространены в мочильной жидкости производственного происхождения, но встречаются реже предыдущей группы.

Кислоторазрушающая активность отдельных представителей, активных в зоне кислых значений pH, показана в табл. 1.

Таблица 1

Кислоторазрушающая активность чистых культур

Культура	Уксусная в мг на 100 мл	Масляная в мг на 100 мл	Сброжено в %		Срок опыта в сутках
			уксусной	масляной	
Контроль до засева	218,76	164,47	—	—	—
Oidium № 12	17,62	14,30	91,9	91,3	5
Torula № 16	4,41	53,15	98,0	67,7	5
Mycoderma № 3	4,65	102,20	97,9	37,9	5
Слизеобразующая № 6 (миксобактерия)	27,70	18,57	87,8	88,8	6
Коккобактерия № 6 типа Acetobacter	7,46	20,41	96,6	87,6	5

Идентификация изолированных чистых культур показала, что микроорганизмы, активные в условиях нейтральной среды, т. е. разрушающие органические кислоты мочильной жидкости только в связанном виде, принадлежат к разнообразным и широко распространенным в природе видам. Сюда относятся:

а) полиморфные слизеобразующие палочки с бледнорозовым, реже желтым пигментом, морфологически идентичные вышеописанным несовершенным миксобактериям, но резко от них отличающиеся неспособностью развиваться и разрушать летучие кислоты в кислой среде;

б) мелкие грамотрицательные палочки типа Bact. fluorescens;

в) мелкие палочки, образующие желтый пигмент, типа Flavobacterium;

г) разнообразные крупные бациллы с центральнорасположенной спорой, идентичные Bac. subtilis, Bac. mesentericus и Bac. mycoides, и более мелкие палочки с концевой спорой, ближе не идентифицированные;

д) желтые сарцины;

е) не образующие пигмента кокки, неидентифицированные.

Вся эта разнообразная по морфологии группировка объединяется общим признаком хорошего роста на белковых средах и чувствительностью к кислой реакции среды.

Чтобы получить более конкретное представление о роли каждой из вышеописанных группировок в процессе разрушения кислот, производился количественный учет микрофлоры в разные моменты мочки льна и

регенерации (табл. 2). Анализ проведен на мочильной жидкости колхозного мочила (Островского района Псковской области).

Таблица 2

Динамика кислоторазрушающей микрофлоры в процессе мочки льна и регенерации (в тысячах на 1 мл)

Условия опыта	Пенное брожение	Конец мочки, выгрузка льна	Регенерация	
			через 7 суток	через 30 суток
Микрофлора, активная при pH < 5,0	25	80	300	Верх 30 Глубина 50
Микрофлора, активная при pH > 6,5	1,750	1,350	10 000	Верх 25 000 Глубина 12 000
pH жидкости	4,5	4,5	6,0	7,0

Полученные данные указывают на то, что микрофлора, приспособленная к кислой реакции, начинает проявлять активность еще при наличии льна в жидкости, наиболее активна после его выгрузки, но подавляется в дальнейшем, когда pH жидкости повышается и переходит в щелочную зону. Несколько непонятным является низкий абсолютный титр этой группировки: даже в момент максимального размножения он не превышает сотен тысяч клеток на 1 мл. Это, возможно, объясняется причинами методического характера, в частности — трудностью приготовления равномерной бактериальной эмульсии в связи с пленочным характером роста представленных в данной группировке микроорганизмов. Аэробные микроорганизмы, активные в нейтральной среде, уже в период пенного брожения насчитываются миллионами, в дальнейшем процессе мочки льна количественно не изменяются, после удаления вымоченного льна заметно размножаются и довольно обильно представлены и в верхних и в глубинных слоях жидкости. Однако, если учесть, что эта группировка охватывает широко распространенные виды, разрушающие белки, то следует допустить, что имеющаяся у них потенциальная способность к разрушению солей органических кислот проявляется не в процессе мочки, а гораздо позднее, после удаления вымоченного льна, когда белковые вещества среды находятся в минимуме.

В целом полученные результаты подтверждают предположения многих авторов [3, 6, 7] о том, что уже в процессе мочки льна кислоторазрушающая микрофлора находится в деятельном состоянии.

Из вышеприведенного перечня кислоторазрушающих микроорганизмов наибольшего внимания заслуживают две бактериальные группы, активные в кислой среде: коккобактерии типа Acetobacter и непигментные несовершенные миксобактерии. Способность этих групп сжигать свободные органические кислоты в связи с некоторыми биологическими их особенностями — плохой выживаемостью в илах, вытесняемостью другими группами в некислой среде, частой потерей жизнеспособности в лабораторных условиях — указывает на то, что они являются узко специализированными формами, приспособившимися к существованию в определенной, довольно ограниченной экологической обстановке. Представило бы поэтому значительный интерес выяснить наличие аналогичных кислоторазрушающих групп в других естественных субстратах, где в результате анаэробных процессов могут скапливаться заметные количества свободных органических кислот (например, в некоторых почвах, в силосе и т. п.).

Выводы

1. Микрофлора, разрушающая органические кислоты мочильной жидкости в условиях кислой среды, состоит из дрожжевидных микроорганизмов типа Oidium, Torula и Mycoderma и из бактериальных видов типа Acetobacter и несовершенных миксобактерий.

2. Микрофлора, разрушающая кислоты мочильной жидкости в связанном виде, состоит из разнообразных, широко распространенных в природе видов, разрушающих белки.

3. Микрофлора, разрушающая кислоты мочильной жидкости в условиях кислой реакции, находится в активном состоянии в процессе мочки льна, достигает максимума после удаления льна и в дальнейшем подавляется.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 10. VI. 1949 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бычковская А. Л. Аэробная регенерация льняной мочильной жидкости в высоком слое. Микробиология, XVIII, вып. 5, 1949.
2. Бычковская А. Л. Анаэробная регенерация льняной мочильной жидкости и пути ее ускорения. Микробиология, XIX, вып. 4, 1950.
3. Вольфсон И. А. Биохимические свойства возбудителей мочки льна. Тр. Всесоюзн. ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 1, 1936.
4. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. О несовершенных формах миксобактерий. Микробиология, XIV, вып. 4, 1945.
5. Кальманович Ф. Л. и Аврунина А. И. К вопросу о регенерации мочильной жидкости. Исследования по первичной обработке лубяных волокон, Сборник № 1, 1930.
6. Клупт С. Е. и Маркова З. С. Опыт применения заквасок при холодноводной мочке льна. Тр. Всесоюзн. ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 2, 1935.
7. Крутикова Л. П. О микроорганизмах тепловой мочки льна. Тр. Всесоюзн. ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 1, 1936.
8. Маркова З. С. Granulobacter pectinovorum и микроорганизмы, разлагающие соли летучих жирных кислот. Тр. Всесоюзн. ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 1, 1936.
9. Минервин В. В. Опыт мочки с регенерацией мочильной жидкости в полузаводском масштабе. Льно-пенько-джутовая промышленность № 4, 35, 1932.
10. Минервин В. В. Изыскание приемов регенерации мочильной жидкости анаэробным путем. Льно-пенько-джутовая промышленность № 6—7, 86, 1932.
11. Bredemann G. u. Werner W. Untersuchungen über den biologischen Abbau der n-Buttersäure, Ctbl. Bakt., II, 86, 375, 486, 1932.

ВЛИЯНИЕ ТВЕРДЫХ ЧАСТИЦ, ПЕРЕМЕШИВАНИЯ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ

Л. И. Комарова

Твердые частицы, внесенные в сбраживаемую жидкость, способствуют ускорению брожения, так как при этом обеспечивается равномерное распределение дрожжей в среде и соответственно облегчается отток от клеток продуктов их жизнедеятельности и ускоряется приток к клеткам необходимых для жизни веществ. В силу этих же причин процесс брожения ускоряется и при перемешивании, которое может быть искусственным и естественным, возникающим вследствие выделения углекислого газа.

Повышение температуры среды до оптимальной также ускоряет брожение. При ускорении брожения происходит более интенсивное выделение углекислого газа, что и обусловливает энергичное естественное перемешивание, ведущее к дальнейшему ускорению брожения. Было замечено, что всегда при ускорении брожения увеличивается мутность сбраживаемой жидкости, так как при этом увеличивается количество клеток, находящихся во взвешенном состоянии. Это обстоятельство, будучи, как установлено, следствием интенсификации процесса брожения, является в то же время фактором, определяющим скорость самого процесса.

Задача данной работы состояла в изучении взаимосвязи факторов, ускоряющих процесс брожения.

Методика

Работа проводилась в основном с дрожжами Saccharomyces cerevisiae XII раса.

В качестве сбраживаемой среды были использованы фильтрованные заторы различного крахмалистого сырья. Фильтрованный затор стерилизовался в больших бутылях; затем прозрачная часть его сливалась и разливалась в колбах по 100 мл в каждую. В некоторые колбы вносились инфузорная земля или стеклянные трубочки, причем стеклянные трубочки вносились в среду до заполнения ими всего объема сбраживаемого сусла. Длина трубочек была 1—1,5 см, внутренний диаметр 2,2 мм, внешний диаметр 4 мм.

Дрожжи вносились в опытные колбы в одинаковом количестве в виде водной взвеси, после чего колбы закрывались клапанами Мейсля, ставились в термостат при 30° и ежедневно взвешивались до тех пор, пока не прекращалось выделение углекислоты. Динамика брожения учитывалась по количеству выделившейся углекислоты, а в ряде опытов и по количеству образовавшегося спирта; спирт определялся по Мартену, а сахар по Бертрану.

Перемешивание сбраживаемой жидкости осуществлялось на аппарате для встряхивания. Сухой вес дрожжей определялся после фильтрования 50 мл тщательно перемешанной бражки через стеклянные фильтры № 4. Осадок дрожжей промывался дестиллированной водой, и фильтры сушились при 100° до постоянного веса.

Подсчет клеток проводился в счетной камере Тома.

1. Влияние твердых частиц на брожение

Для бродильной промышленности большое значение имеют различные факторы, активирующие брожение. Одним из таких факторов является внесение в сбраживаемую жидкость твердых частиц.

Впервые на активирование спиртового брожения при введении в среду твердых частиц указал Лебедев в 1909 г. [3]; он наблюдал значительное ускорение брожения и более полное сбраживание сахаров при внесении в среду стеклянных палочек. В дальнейшем это явление было подтверждено многими исследователями (Забродский [1], Reimisch [8] и др.).

При внесении в сбраживаемое сусло инфузорной земли или стеклянных трубочек мы наблюдали значительное ускорение брожения, больший выход спирта и более полное сбраживание сахаров по сравнению со сбраживанием прозрачного сусла (табл. 1).

Таблица 1

Сбраживание сусла в присутствии инфузорной земли (3 г на 100 мл)

№ опыта	№ колбы	Среда	Срок брожения в днях	CO_2 в г на 100 мл, дни брожения					в г на 100 мл бражки		
				1	2	3	4	7	Спирт	Мальтоза	Глюкоза после гидролиза
1	1	Ячменный затор 15,5° Блг., прозрачный	4	2,0	3,0	3,5	3,6	—	3,40	2,65	6,05
	2	Ячменный затор 15,5° Блг., с инфузорной землей	—	3,3	3,8	4,0	4,1	—	4,10	1,10	4,02
2	1	Просяной затор 21° Блг., прозрачный		1,7	4,6	5,56	5,78	5,80	6,25	4,31	7,00
	2		9	1,2	4,8	5,85	5,90	5,57	6,32	4,12	6,73
	3	Просяной затор 21° Блг., с инфузорной землей		3,8	6,5	7,20	7,20	7,20	7,48	1,54	3,33
	4			3,0	6,7	7,20	7,25	7,25	7,57	1,57	3,33

При сбраживании сусла в присутствии твердых частиц обращает на себя внимание более бурное перемешивание сусла во время брожения. При этом как механические частицы, так и дрожжи находятся во взвешенном состоянии в сбраживаемой среде, сообщая ей бо́льшую степень мутности. Сусло, в которое не была внесена твердая фаза, бродит более спокойно, клетки в основном находятся во время брожения на дне сосуда, и вследствие оседания дрожжей среда становится довольно прозрачной уже через сутки после начала брожения.

Подсчет клеток показал (табл. 2), что в присутствии взвешенных частиц размножение клеток происходит более энергично, чем в прозрачном сусле.

Все это говорит о том, что в присутствии взвешенных частиц создаются более благоприятные условия для размножения дрожжей и для процесса брожения, чем в прозрачном сусле.

Кроме подсчета клеток нами определялся сухой вес дрожжей, содержащихся в определенном объеме бражки, в этих опытах в качестве

Таблица 2

Размножение дрожжей в прозрачном сусле и в сусле с инфузорной землей

№ опыта	№ колбы	Среда	Количество клеток в начале опыта в 1 мл	Через 1 день			Через 4 дня		
				CO_2 в г на 100 мл	Количество клеток в 1 мл	Мутность среды	CO_2 в г на 100 мл	Количество клеток в 1 мл	Мутность среды
1	1	Просяной затор 19° Блг., прозрачный	5000	1,40	37 500	Среда прозрачная	5,00	70 000	Среда прозрач.
	2		5000	1,58	40 000		5,10	72 500	
	3	Просяной затор 19° Блг. с инфузорной землей	5000	3,51	60 000	Среда мутная	5,72	92 500	То же
	4		5000	3,20	52 500		5,70	88 000	„
2	1	Просяной затор 21° Блг., прозрачный	2000	2,0	52 500	Среда прозрачная	3,50	61 500	„
	2		2000	1,90	48 000		3,42	58 200	„
	3	Просяной затор 21° Блг., с инфузорной землей	2000	3,35	65 000	Среда мутная	4,0	75 200	„
	4		2000	3,45	70 500		4,1	82 000	„

Таблица 3

Сбраживание сусла в присутствии инфузорной земли и стеклянных трубочек

№ опыта	№ колбы	Среда	Твердая фаза	CO_2 в г на 100 мл, дни брожения					Спирт	Мальтоза	Глюкоза после гидролиза	Количество дрожжей в 1 мл	Сухой вес дрожжей в 100 мл бражки в г
				1	2	3	4	6	в г в 100 мл бражки				
1	1	Просяной затор 21° Блг.	Контроль	1,4	2,6	4,5	4,7	4,8	5,65	5,04	9,37	—	0,205
	2	То же	Стеклянные трубочки	2,1	5,0	5,4	5,47	5,51	6,03	4,80	7,82		0,308
	3	„	Инфузорная земля	3,0	6,0	6,48	6,51	6,51	7,03	2,88	6,30		
2	1	Просяной затор 21° Блг.	Контроль	0,96	4,38	4,90	5,32	5,40	6,11	5,3	9,10	48 200	0,225
	2	То же	„	1,00	4,92	5,00	5,47	5,57	6,38	4,8	8,68	49 800	0,240
	3	„	Стеклянные трубочки	1,90	5,35	5,85	6,04	6,20	6,69	4,19	7,90	69 600	0,306
	4	„	То же	1,94	5,57	6,13	6,35	6,35	6,74	4,01	7,77	69 200	0,330

твердой фазы в сусло вносились стеклянные трубочки ввиду того, что в присутствии инфузорной земли определение сухого веса дрожжей затруднительно.

Динамика сбраживания сусла и результаты накопления биомассы в присутствии стеклянных трубочек даны в табл. 3.

Первоначальное количество клеток во всех случаях было одинаковым (2000 в 1 мм³). Не трудно заметить, что в присутствии стеклянных трубочек образуется больше спирта, сбраживается большее количество сахара и накапливается большее количество дрожжей по сравнению с этими же показателями при сбраживании прозрачного сусла.

Оказалось, что интенсивность брожения при наличии в среде стеклянных трубочек была несколько ниже, чем в присутствии инфузорной земли. Это можно объяснить тем, что инфузорная земля создает значительно бóльшую поверхность для размещения дрожжей.

Полученные данные позволяют считать, что в практических условиях спиртовое брожение должно быть обеспечено необходимым (оптимальным) количеством взвешенных веществ в сбраживаемой жидкости (шелуха или другие наполнители).

Влияние перемешивания на брожение

При изучении влияния перемешивания на спиртовое брожение нами были использованы следующие дрожжи: 1) Saccharomyces cerevisiae XII раса, 2) Schizosaccharomyces Pombe, 3) Saccharomyces ellipsoideus № 169, любезно предоставленная нам Кудрявцевым.

Эти дрожжи отличаются между собой различной степенью сбраживания сусла, как то было описано Кудрявцевым, Агатовым и Клоповской [2].

При изучении процесса брожения, вызываемого различными дрожжами, можно отметить, что бродящая жидкость сохраняет различную степень мутности, которая свойственна каждому из этих видов дрожжей.

Интересным является тот факт, что глубоковыбраживающие дрожжи Schizosaccharomyces отличаются от дрожжей Saccharomyces тем, что они вызывают более сильное помутнение сбраживаемой жидкости, что является следствием большей взвешенности клеток Schizosaccharomyces в бродящей жидкости. При сбраживании сусла XII расой мутность в нем наблюдается лишь в течение одних-полутора суток, затем дрожжи оседают на дно и бражка становится почти прозрачной. Параллельно степени мутности снижается энергия брожения.

Напротив, при сбраживании сусла дрожжами Schizosaccharomyces прозрачным сусло остается лишь в первый период чрезвычайно медлен-

Таблица 4

Соотношение энергии брожения и степени мутности сбраживаемой среды у различных видов дрожжей

Дни брожения	Saccharomyces cerevisiae XII раса			Schizosaccharomyces		
	CO_2 в г	Степень мутности	Показания гальванометра	CO_2 в г	Степень мутности	Показания гальванометра
1	2,23	Мутная	40	0,6	Прозрачная	75
2	5,3	Почти прозрачная	60	2,7	Слабомутная	54
3	5,7	Прозрачная	72	6,0	Мутная	42
4	6,0	»	74	6,6	»	45

ного брожения, характерного для этих дрожжей. Затем с повышением энергии брожения увеличивается мутность среды и клетки остаются взвешенными в течение длительного периода дображивания, который у этих дрожжей является очень энергичным.

Табл. 4 дает представление о соотношении между энергией брожения и мутностью сбраживаемой среды; степень помутнения среды определялась нефелометрически.

Наблюдаемый параллелизм между энергией брожения и степенью мутности сбраживаемой среды заставляет предполагать наличие взаимной связи между этими явлениями, а не считать степень взвешенности клеток простым следствием брожения.

На основании этого естественным было предположить, что более глубокое выбраживание углеводов сусла дрожжами Saccharomyces зависит в какой-то мере от большей взвешенности их клеток в среде.

Для выяснения этого вопроса были поставлены опыты по сбраживанию сусла испытуемыми дрожжами при внесении в сусло инфузорной земли и при перемешивании (табл. 5).

При перемешивании наблюдается ускорение размножения клеток и ускорение процесса брожения. В бражке накапливается больше спирта за счет более полного сбраживания углеводов.

При одновременном перемешивании и внесении в среду инфузорной земли дополнительного ускорения брожения почти не происходит, что говорит о том, что оба фактора действуют в одном направлении, а именно в направлении облегчения притока и оттока веществ. В связи с этим встает вопрос о пересмотре существующего представления о роли адсорбентов в спиртовом брожении. Обычно весь видимый эффект в ускорении брожения, получаемый от внесения адсорбентов в среду, приписывался их специфическому действию. Именно так рассматривался вопрос о влиянии активированного угля на спиртовое брожение (Neuberg [7], Abderhalden [5], Ivecovic [6] и др.). Наши опыты с инфузорной землей и с перемешиванием показали, что адсорбенты в большой мере влияют, как взвешенные частицы, облегчающие приток и отток веществ. Действительно, в работе Плевако и Кинзбурской [4] указывается на то, что наиболее сильно активируют брожение те угли, которые находятся в среде в более взвешенном состоянии; они-то, очевидно, способствуют большей взвешенности дрожжей в бродящей среде.

Внесение инфузорной земли и перемешивание при сбраживании сусла дрожжами из рода Schizosaccharomyces сказывается в меньшей степени, чем при сбраживании в этих же условиях сусла дрожжами из рода Saccharomyces. Это можно объяснить тем, что дрожжи Saccharomyces при брожении без перемешивания быстро оседают на дно сосуда, а дрожжи Schizosaccharomyces обладают естественным свойством находиться во взвешенном состоянии.

Таким образом мы видим, что на процесс брожения оказывают влияние не только температурные условия, химический состав среды и ферментативный комплекс дрожжей, но и степень свободного соприкосновения клеток со средой. Мы видим, что питание и размножение дрожжей, а также и процессы, вызываемые ими, протекают по-иному в зависимости от степени взвешенности их в среде.

На основании этого можно заключить, что меньшая степень сбраживания сусла в лабораторных условиях по сравнению с заводскими условиями может быть объяснена тем, что дрожжи Saccharomyces в прозрачной среде быстро оседают на дно, переставая в большей своей массе соприкасаться со сбраживаемой жидкостью. Наоборот, более бурное брожение заторов на спиртовых заводах по сравнению с более вялым брожением в лабораторных условиях можно объяснить не только влиянием диастаза солода, но и наличием в среде взвешенных частиц (дробины), а также энергичным естественным перемешиванием, вызываемым

Влияние твердых частиц и перемешивания на брожение

Таблица 5

№ опыта	№ колбы	Дрожжи	Среда	Условия брожения	Продолжительность брожения в днях	1-й день: CO_2 в мг на 100 мл	1-й день: количество клеток в мл	2-й день CO_2 в г на 100 мл	Всего выделилось CO_2 в г на 100 мл	Спирт	Мальтоза	Глюкоза после гидролиза
										в г на 100 мл бражки		
1	1	Sacch. cerevisiae II	Просяной затор 21° Блг.	Контроль	2	2,0	37 500	3,5				
	2	То же		Инфузорная земля	2	3,2	72 500	4,0				
	3	»	То же	Перемешивание	2	3,8	77 500	4,12				
	4	»	»	Инфузорная земля и перемешивание	2	3,7	82 000	3,93				
2	1	»	Просяной затор 20° Блг.	Контроль	3	1,9	35 000	3,9		4,50	1,40	5,07
	2	»		Перемешивание	3	2,77	71 500	4,17		4,68	0,84	3,78
3	1	»	Просяной затор 20° Блг.	Контроль	10	1,0		4,08	5,37	6,17	5,44	8,97
	2	»	То же	»	10	0,7		3,60	5,06	6,00	6,75	9,23
	3	Sacch. ellipsoideus № 169	»	»	10	0,65		1,72	4,6	5,31	6,24	10,34
	4	То же	»	»	10	0,50		2,05	4,7	5,57	5,85	9,72
	5	Schiz. Pombe	»	»	10	0,1		1,02	7,70	8,58	1,21	3,89
	6	То же	»	»	10	0,1		1,12	7,80	8,71	1,23	3,89
	7	Sacch. cerevisiae XII	»	Инфузорная земля	10	1,56		6,23	6,88	7,66	2,52	6,18
	8	То же	»	То же	10	2,07		5,95	6,60	7,00	3,40	6,79
	9	Sacch. ellipsoideus № 169	»	»	10	0,95		2,85	6,40	6,82	3,08	7,4
	10	То же	»	»	10	1,00		3,27	6,26	6,78	3,04	7,15
	11	Schiz. Pombe	»	»	10	0,5		3,65	7,90	8,67	1,12	3,66
	12	То же	»	»	10	0,5		3,55	7,70	8,58	1,15	3,74
4	1	Sacch. cerevisiae XII	»	Контроль	3	1,31		6,26	7,26	7,30	2,60	6,63
	2	То же	»	»	3	1,68		7,33	7,18	7,30	2,60	6,63
	3	Sacch. ellipsoideus № 169	»	»	3	1,0		2,85	6,2	6,28	3,57	8,20
	4	То же	»	»	3	1,0		2,53	5,9	6,00	4,80	8,75
	5	Schiz. Pombe	Просяной затор 21° Блг.	Контроль	3	0,60		5,43	8,40	8,44	1,30	4,25
	6	То же	То же	»	3	0,87		5,97	8,32	8,46	1,20	4,00
	7	Sacch. serevisiae XII	»	Перемешивание	3	4,73		7,88	7,90	7,76	1,65	5,25
	8	То же	»	»	3	4,70		7,77	7,82	7,65	1,65	5,50
	9	Sacch. ellipsoideus № 169	»	»	3	2,04		5,51	6,56	6,81	3,04	7,02
	10	То же	»	»	3	2,12		5,64	6,62	6,61	3,11	7,10
	11	Schiz. Pombe	»	»	3	2,33		6,43	8,50	8,33	1,00	4,25
	12	То же	»	»	3	2,78		7,26	8,52	8,37	1,00	4,05

выделением огромных количеств углекислоты, соответствующих емкостям бродильной аппаратуры.

Это говорит о целесообразности применения искусственного перемешивания в тех микробиологических процессах, которые протекают без интенсивного естественного перемешивания.

При перемешивании наблюдается ускорение размножения клеток и ускорение процесса брожения. В бражке накапливается больше спирта за счет более полного сбраживания углеводов.

3. Влияние температуры на брожение

Обычно при изучении влияния температуры на брожение все отмечаемое ускорение брожения, вызванное действием определенной температуры, приписывается специфическому действию последней. Между тем увеличение взвешенности дрожжей и повышение скорости естественного перемешивания, наблюдаемые при всяком ускорении брожения, позволяют предположить, что ускорение брожения является результатом суммарного действия двух факторов: действия температуры и действия естественного перемешивания.

Для установления влияния температуры на взвешенность дрожжей при брожении опыты проводились при 20 и 30°. Наблюдения показали, что при 20° брожение протекает более вяло и среда остается более спокойной, чем при сбраживании этой же среды при 30°, в силу чего и количество дрожжей, находящихся во взвешенном состоянии, при 20° меньше, чем при сбраживании среды при 30°.

Для установления взаимосвязи интенсивности брожения и взвешенности дрожжей брожение проводилось в аппаратах Кирова, в которые вносилось по 100 мл среды. После внесения дрожжей приборы ставились на брожение при температуре 20° и 30°. Через 24 часа отмечался внешний вид бродящей жидкости и затем производился подсчет клеток, находящихся во взвешенном состоянии. Для этого с поверхности жидкости осторожно тонкой пипеткой отбиралось немного бродящего

Таблица 6

Влияние температуры на взвешенность дрожжей при брожении

№ опыта	№ колбы	Среда	Количество клеток в начале опыта на 1 мл	Температура	Часы брожения	CO_2 в г на 100 мл	Энергия брожения по Кирову	Количество взвешенных дрожжей в 1 мл	Общее количество клеток в 1 мл	Примечание
1	1	Пивное сусло 12° Блг.	1 000	20	16	0,30	нет	140	2 800	Следы брожения
	2	То же	1 000	20	16	0,35	„	152	3 000	Брожение
	3	„	1 000	30	16	1,00	5′12″	1 562	12 500	„
	4	„	1 000	20	16	1,10	5′00″	1 500	12 000	„
2	1	„	8 000	20	15	2,50	5′10″	4 250	11 250	„
	2	„	8 000	20	15	2,80	4′50″	4 500	12 000	„
	3	„	8 000	30	15	5,60	0′58″	42 500	140 000	Бурное брожение
	4	„	8 000	30	15	5,40	1′00″	40 000	138 500	То же
3	1	„	1 000	10	10	0		30		Брожение отсутствует
	2	„	1 000	20	10	0,02		2 000		Следы брожения
	3	„	1 000	30	10	0,68		20 500		Брожение

сусла, в котором и производился подсчет клеток. После взятия пробы для подсчета клеток производилось определение энергии брожения по Кирову. Затем содержимое колбы тщательно перемешивалось и производился подсчет общего количества клеток. Эти опыты показали, что при 30° вследствие более бурного брожения количество дрожжей, находящихся во взвешенном состоянии, больше, чем при 20°, о чем можно было судить даже невооруженным глазом по мутности среды. Результаты определений приведены в табл. 6.

Даже при внесении относительно большого количества дрожжей брожение при 20° идет довольно вяло, вследствие чего почти все клетки находятся на дне сосуда. Таким образом, мы видим, что имеется прямая взаимосвязь между энергией брожения и количеством клеток, находящихся во взвешенном состоянии.

Таблица 7

Влияние центрифугирования на брожение при 30°

№ опыта	№ сосуда	Условия брожения	Внесено клеток при посеве на 1 мл	Часы брожения	Интенсивность выделения CO_2	Спирта в 100 мл сусла	Количество клеток в 1 мл
1	1	Контроль	10 000	10	Бурное выделение	0,39	82 500
	2	»	10 000	10		0,35	85 000
	3	Центрифугирование	10 000	10	Слабое выделение	0,18	37 500
	4		10 000	10		0,20	40 000

Таблица 8

Скорость брожения при 20° и 30° в присутствии наполнителей

№ опыта	№ колбы	Среда	Количество клеток в 1 мм³	Температура брожения	Наполнители	Через сутки		Через 2 суток CO_2 в г на 100 мл
						CO_2 в г на 100 мл	Ускорение брожения	
1	1	Ржаной затор 15,5° Блг.	4500	20	Прозрачное сусло	0,70	4,8	5,7
	2	То же	4500	30		3,40		6,55
	3	»	4500	20	Сусло с инфузорной землей	1,50	3,2	6,2
	4	»	4500	30		4,85		6,65
2	1	Просяной затор 21° Блг.	5000	20	Прозрачное сусло	0,59	4,5	6,72
	2	То же	5000	30		2,64		7,00
	3	»	5000	20	Стеклянные трубочки	0,88	3,8	7,03
	4	»	5000	30		3,42		7,96
3	1	Просяной затор 21° Блг.	1000	20	Прозрачное сусло	0,22	7,5	4,22
	2	То же	1000	30		1,65		7,0
	3	»	1000	20	Сусло с инфузорной землей	0,40	4,8	6,75
	4	»	1000	30		1,92		7,72

Если путем центрифугирования мы препятствовали перемещению клеток в бродящей жидкости, то размножение дрожжей и процесс брожения протекали более медленно по сравнению с контролем, несмотря на то, что культивирование производилось при оптимальной температуре и среда была богата всеми необходимыми для дрожжей веществами (табл. 7). Это доказывает, что степень взвешенности дрожжей в бродящей жидкости является не только следствием брожения, но и фактором, определяющим скорость последнего.

Для установления влияния на брожение температуры и взвешенности дрожжей были проведены опыты сбраживания при 20 и 30° с внесением твердых частиц в сбраживаемое сусло. Результаты приведены в табл. 8.

Из данных этой таблицы мы видим, что брожение при 30° протекает в несколько раз скорее, чем при 20°. При ведении брожения при 20° брожение протекает значительно скорее в том сусле, в которое была внесена инфузорная земля, чем в прозрачном сусле. Таким образом, скорость брожения сусла с инфузорной землей при 20° в той или иной степени приближается к скорости брожения прозрачного сусла при 30°, а в некоторых случаях и превышает ее (табл. 8, опыт 2, на второй день). Подсчеты клеток через сутки после посева показали, что ускорение брожения сусла с инфузорной землей при 20° протекает с более быстрым накоплением клеток по сравнению с прозрачным суслом, находящимся при 20°, и почти равняется скорости накопления клеток в прозрачном сусле, находящемся при 30°.

Таким образом, мы видим, что при большой взвешенности клеток в питательной среде размножение клеток и процесс брожения при 20° ускоряются настолько, что скорость его равняется скорости брожения при оптимальной температуре.

Таблица 9

Влияние температуры и перемешивания на брожение

№ опыта	№ колбы	Среда	Температура	Условия брожения	CO_2 в г за 20 часов	Ускорение брожения	CO_2 в г за 48 часов	Спирт в г в 100 мл браж-ки	Количество дрожжей в 1 мм³ бражки
1	1	Просяной затор 21° Блг.	20	Прозрачное сусло в покое	0,52		1,88	3,3	25 000
	2	То же	20	То же	0,50		1,80	3,3	30 000
	3	„	20	Сусло со стеклянными палочками в покое	1,0		3,80	5,0	52 000
	4	„	20	То же	1,2		4,20	5,8	58 000
	5	„	20	Перемешивание	2,65		6,25	7,0	75 000
	6	„	20	„	2,60		6,00	7,3	70 000
	7	„	30	Прозрачное сусло в покое	2,0		3,3	4,2	42 500
	8	„	30	То же	1,95		3,0	4,0	38 500
2	1	Пивное сусло 16.75° Блг.	20	Сусло в покое	0,15		1,65		62 500
	2	То же	20	То же	0,13		1,45		71 300
	3	„	30	„	2,45	17	3,50		90 200
	4	„	30	„	2,55		3,60		98 600
	5	„	20	При перемешивании	1,65		4,60		150 000
	6	„	20	То же	1,85	2,5	4,65		165 000
	7	„	30	„	4,40		4,80		171 000
	8	„	30	„	4,30		4,65		170 000

Далее были проведены опыты с перемешиванием при температуре 20 и 30° (табл. 9).

При этом выявилось, что при сбраживании сусла при 20° размножение клеток и брожение с перемешиванием идут в некоторых случаях даже скорее, чем при 30° в прозрачном сусле, находящемся в покое. Накопление клеток и спирта при 20° при перемешивании сусла было значительно бóльшим, чем при 30° в прозрачном сусле, находящемся в покое. Накопление клеток и накопление спирта при сбраживании сусла при 20° при наличии в сусле стеклянных трубочек было также бóльшим, чем при сбраживании прозрачного сусла при 30°.

Полученные результаты заставляют предполагать, что фактор естественного перемешивания играет немаловажную роль в процессе брожения. Так как в естественных условиях довольно энергичное перемешивание жидкости возникает в результате ускорения брожения при повышении температуры до оптимальной, то ускорение брожения при 30° идет за счет одновременного действия повышенной температуры и следствия ее действия — интенсивного естественного перемешивания.

Выводы

1. Между мутностью бродящей жидкости, зависящей от количества дрожжей, находящихся во взвешенном состоянии, и энергией брожения наблюдается определенное взаимоотношение, а именно: повышение энергии брожения увеличивает взвешенность клеток, что в свою очередь ведет к дальнейшему ускорению брожения.

2. Введение в сбраживаемую среду твердых частиц, обеспечивающих взвешенное состояние дрожжевых клеток, повышает скорость размножения дрожжей и скорость брожения и увеличивает выход биомассы и спирта при более полном использовании углеводов сусла.

3. Перемешивание также интенсифицирует процесс брожения вследствие увеличения взвешенности дрожжей и ускорения притока и оттока веществ.

4. При повышении температуры среды до оптимальной происходит более интенсивное выделение CO_2, которое повышает скорость естественного перемешивания сбраживаемой жидкости. Вследствие этого ускорение брожения, наблюдаемое при оптимальной температуре, является результатом суммарного действия двух факторов: температуры и естественного перемешивания.

Всесоюзный научно-исследовательский
Институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 20. VII. 1949 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Забродский А. Г. Влияние сорбированного твердой фазой кислорода воздуха на сбраживание сусла. Микробиология XV, 433, 1946.
2. Кудрявцев В. И., Агатов П. А. и Клоповская К. И. Об углеводном составе пивного сусла и о сбраживании декстринов дрожжами. Микробиология, XVI, 155, 1947.
3. Лебедев С. В. Методы непрерывного брожения. Москва, 1936.
4. Плевако Е. А. и Кинзбурская Ф. М. Активирование спиртового брожения адсорбентами. Микробиология, I, 399, 1932.
5. Abderhalden E. u. Glaubach S. Untersuchungen über die alkoholische Gärung mittels Hefezellen unter verschiedenen Bedingungen. Fermentforschung, 6, 143, 1922.
6. Ivecovic H. Beitrag zur Kenntnis der alkoholischen Hefegärung und deren Beschleunigung durch Tierkohle. Biochem. Z., 183, 451, 1927.
7. Neuberg C. Über eine allgemeine Beziehung der Aldehyde zur alkoholischen Gärung nebst Bemerkung über das Koferment der Hefe. Biochem. Z., 88, 145, 1918.
8. Reimisch E. Die Bedeutung der Hefeverteilung im Nährmedium für den Gärungsverlauf. Ctbl. Bakt., II Abt. 90, 218, 1934.

ОПИСАНИЕ ДРОЖЖЕЙ ИЗ КУРУНГИ

Л. Е. Хунданов

Описываемые нами дрожжи были выделены из кисломолочного продукта курунги, широко распространенного среди народов Северо-Восточной Азии (бурят, монголов, хакасов, тувинцев, ойротов и др.). Во вкусовом отношении курунга является приятной кисловатой, шипучей жидкостью, по густоте мало отличающейся от кумыса. Она получается путем молочнокислого и спиртового брожения коровьего молока, с образованием молочной кислоты и незначительного количества спирта.

Приготовление этого продукта было известно народам Северо-Восточной Азии с глубокой древности. Монголы и тувинцы, ведя полукочевой образ жизни и имея большие стада коров, исключительно широко занимались производством курунги, и она для них служила в летнее время почти единственным источником питания.

Со второй половины XIII столетия секрет приготовления курунги постепенно стал распространяться среди бурят и хакасов, ныне населяющих территорию Бурят-Монгольской автономной ССР, Иркутской области и Красноярского края. В более позднее и настоящее время приготовление этого продукта уже известно не только монголам, бурятам, хакасам, тувинцам, но и ойротам и тунгусам. Буряты, монголы и хакасы в настоящее время употребляют курунгу не только как продукт питания, но и подвергают ее переработке путем дестилляции. В результате такой переработки из курунги получается молочное вино «тарасун» и полужидкий питательный напиток «арса», которые служат излюбленным напитком в летнее время.

Таким образом, производством курунги в настоящее время занимаются почти все народности, населяющие северо-восточные районы Союза ССР. Несмотря на это и на историческую давность курунги, до последних лет она оставалась совершенно не изученной. Надо полагать, что всестороннее изучение курунги, особенно с микробиологической стороны, имеет определенное научное и практическое значение.

Возбудителем спиртового процесса в курунге являются дрожжеподобные организмы, относящиеся к группе Torula. Они представлены в курунге одним видом, который по культуральным и биохимическим свойствам отличен от кумысных и кефирных дрожжей. Описание его дается нами ниже.

Морфология

Клетки яйцевидной и удлиненно-овальной формы. Длина их достигает 10—12 μ. Ширина равна 6—8 μ. При окрашивании метиленовой синью внутри клеток хорошо заметны метахроматические включения (рис. 1).

Спорообразование. Споры отсутствуют.

Рост на МПА. Развитие слабое. При температуре 25—26° рост появляется через трое суток. Колонии круглые, широкие, сплошные с волнистыми краями. Цвет колоний беловато-серый, матовый.

Рост на МПЖ. Рост появляется на 3—4-е сутки, колонии тождественны образующимся на МПА. Желатина не разжижается.

Рост на сахарном агаре. Обильный рост через 16—20 часов. Колонии матовые, беловато-серые, крупные, сплошные с ворсистой поверхностью. Их диаметр равен 1—2 мм. При проходящем свете не просвечивают. При старении колонии ее ворсистый характер исчезает и поверхность становится более гладкой (рис. 2).

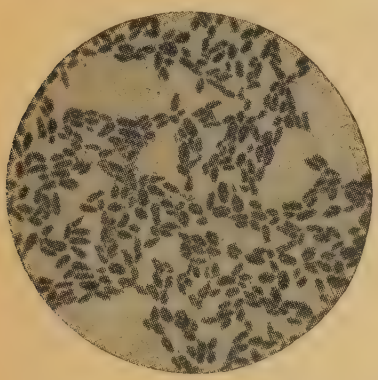


Рис. 1. Клетки дрожжей, выделенных из курунги

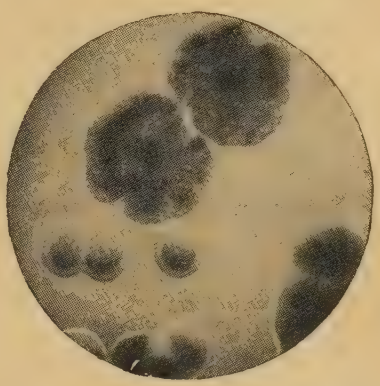


Рис. 2. Колонии дрожжей, выделенных из курунги на сахарном агаре

Рост на молочном агаре. Рост обнаруживается на 2—3-е сутки после посева. Колонии круглые, серовато-белые, края их неровные, зубчатые, поверхность шероховато-ворсистая.

Рост на МПБ. Рост обнаруживается при температуре 25—26° на 3—4-е сутки. На поверхности бульона появляется тонкая сероватодымчатая пленка, впоследствии тянущаяся вверх по стенке флакона. На дне флакона образуется рыхлый серовато-белый осадок. Бульон равномерно мутнеет. При старении культуры (18—19 дней) наступает просветление бульона.

Рост на сахарном бульоне. Рост появляется через 18—24 часа. В остальном культура тождественна с культурой на МПБ.

Рост на молоке. Рост обнаруживается через 18—20 часов после заражения. Молоко не свертывается, в цвете не изменяется.

Температура развития. Минимальная температура развития около 6°.

При этой температуре отмечается слабый рост на 14—16-е сутки. Оптимальная температура роста находится в пределах 25—28°. Выше 34° развитие замедляется и при температуре 42° совершенно прекращается. При температуре — 17° дрожжи сохраняют свою жизнеспособность до 10 дней.

Отношение к реакции питательной среды. Оптимальной реакцией следует считать pH = 5,9 — 6,4; при pH = 4 и 8 развитие прекращается.

Отношение к сахарам. Описываемые дрожжи сбраживают глюкозу, левулезу, галактозу, лактозу, сахарозу, мальтозу и декстрин. Не сбраживают сорбит, рамнозу и маннит.

Иркутский государственный
противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока

Получено 3. XII. 1949 г.

ОБ УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ ОЗИМОЙ РЖИ ГРИБОМ UROCYSTIS OCCULTA (VALLROTH) RABENHORST

И. В. Жукова

Стеблевая головня ржи, вызываемая грибом Urocystis occulta, наблюдается в центральной полосе СССР [1]. Вред, наносимый этой болезнью, общеизвестен — колосья на больных растениях недоразвиваются и не дают семян.

Однако экология этого заболевания до сих пор в отечественной литературе остается неосвещенной. В частности не изучались температурные условия развития болезни; кроме того, некоторые сомнения вызывают указания на возможность сохранения гриба в почве и передачи болезни через почву (Наумов [2]).

С целью уточнения этих вопросов и была поставлена в 1948—1949 гг. настоящая работа.

Для того чтобы установить температурный режим, при котором происходит заражение ржи стеблевой головней, нами производились посевы ржи сорта Вятка в различные календарные сроки. Перед посевом семена ржи заражались сухими спорами, собранными за две недели до опыта и хранившимися в лаборатории. Эти семена были высеяны в три срока: 20 августа, 26 августа и 20 сентября на двухметровых делянках. Повторность опыта двукратная. Температура почвы на глубине заделки семян колебалась от момента посева до всходов: в первом случае от 16 до 20°, во втором от 13 до 15° и в третьем от 6 до 11°. Причем температура 11° в последнем варианте опыта отмечена только в день посева: в последующие дни она колебалась в пределах 9,5—6°.

Посев первых двух вариантов был сделан в сравнительно сухую почву. Так, в первом варианте опыта от дня посева и до всходов не выпало ни одного дождя; во втором варианте на другой день после посева прошел слабый дождь; в третьем варианте влажность почвы была безусловно выше, чем в первых двух случаях, так как все время перепадали дожди, хотя и слабые.

Наблюдения весной и летом 1949 г. показали, что растения всех трех сроков посева перезимовали хорошо, но при запоздалом сроке (20 сентября) отличались очень малой кустистостью (3,3—3,5 против 6,3—7 раннего срока сева).

Первое появление болезни отмечено 21 мая 1949 г., за неделю до колошения ржи, а не вслед за цветением, как это часто указывается, в виде лиловатых полос на листовой пластинке и влагалище листа. Полосы представляли собой скопление хламидоспор гриба, прикрытых эпидермисом растения. В этот ранний период стеблевая головня обнаруживалась главным образом на листьях, так как стебль еще не развит и его поражение остается незаметным. Впоследствии, когда соломина вытягивалась, больное растение приобретало характерный для данной болезни вид.

В период молочной спелости ржи производился подсчет больных и здоровых растений; он показал, что наиболее сильно головня развилась во втором варианте при температуре почвы 13—15°. В первом варианте процент больных растений был несколько ниже.

Возможно, что умеренная влажность почвы во втором варианте способствовала проявлению болезни. Как уже говорилось выше, посев второго варианта был сделан в сухую почву, но на второй день выпал дождь. Есть указания в литературе, что такие же точно условия (посев в умеренно влажную землю и небольшой дождь) способствуют проявлению стеблевой головни пшеницы (Ульянищев [3]).

Видимо, эта закономерность сохраняется и для стеблевой головни ржи.

Таблица 1

Зависимость заражения ржи стеблевой головней от температуры почвы (1948—1949 гг. Александровская Госселекстанция)

Сроки посева	Температура почвы	% больных растений	
		I повторность	II повторность
20.VIII	16—20	25,4	25,0
26.VIII	13—15	30,8	32,2
20.IX	6—11	0	1,5

Во всяком случае следует считать, что температура почвы в 13—20° в соединении с умеренной влажностью ее является оптимальной для развития этой болезни. При температуре ниже 10° и повышенной влажности почвы заражение растений почти не происходит.

Нас интересовал также вопрос о возможности передачи болезни через почву. В этом направлении ставились ориентировочные опыты, в которых семена ржи высевались в почву, зараженную спорами гриба. Споры, собранные и хранившиеся, как было указано выше, вносились в сосуды с почвой за 14 дней до посева, за 8 дней и в день посева; в качестве контроля высевались семена, зараженные спорами головни. Посев семян был сделан одновременно во все сосуды. В фазе начала кущения растения высаживались в грунт и летом 1949 г. подсчитывался процент пораженных головней растений по всем вариантам. Эти подсчеты показали, что почва может быть источником инфекции растений; наибольший процент больных растений был получен при внесении спор в почву за 8 дней до посева.

Однако удаление срока посева от момента заражения почвы на 14 дней уже привело к уменьшению процента больных растений (табл. 2).

Таблица 2

Сохраняемость спор Urocystis occulta в почве 1948/1949 гг. Владимирская область

Вариант	% больных растений
Заражение почвы в день посева	12,4
Заражение почвы за 8 дней до посева	32,2
Заражение почвы за 14 дней до посева	20,7
Заражены семена	22,4

Возможно, что паразит, попав в почву в благоприятные условия температуры и влажности, развивается там некоторое время, благодаря чему и поражает большее число растений, чем при внесении вместе с семенами. Однако долго существовать без питающего растения он не может, и постепенно количество способных к инфицированию особей в почве снижается, о чем свидетельствует уменьшение процента больных растений в третьем варианте. Известно, что в почве происходит постепенный распад головневых спор (Страхов [4]).

Таким образом зараженные семена являются основным источником распространения этой болезни. Условия, при которых проходит сев ози-

мой ржи в Центральной полосе Союза и, в частности, во Владимировской области, способствует проявлению стеблевой головни.

Так как поздний срок сева не может быть рекомендован, а борьба с болезнью должна проводиться, то следует все внимание сосредоточить на осеннем протравливании семян ржи, подобно тому, как это делается с семенами озимой пшеницы.

Выводы

1. Наилучшие условия для поражения ржи грибом Urocystis occulta создаются при температуре почвы 13—20° и при умеренной ее влажности; такие условия в Центральной полосе Союза обычно создаются при раннем сроке посева этой культуры (20—26 августа). Температура 6—10° и повышенная влажность почвы, наблюдающиеся при позднем сроке сева, ограничивают развитие болезни. При запоздалом сроке посева (сентябрьском) кустистость растений резко падает, что само по себе ведет к снижению урожая.

2. В почве споры U. occulta могут сохраняться лишь недолгое время, и семена, таким образом, являются единственным источником сохранения и передачи инфекции; следовательно, борьба с этим заболеванием должна проводиться путем протравливания семян препаратами АБ или НИУИФ-2.

Александровская государственная селекционная станция

Получено 14. II. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горленко М. В. Протравливание семян ржи. Совхозное производство, № 7, 1945.
2. Наумов Н. А. Болезни сельскохозяйственных растений (Фитопатология). Сельхозгиз, М.— Л., 1940.
3. Ульянищев В. И. Стеблевая головня пшеницы (Сводка литературных данных и опытных наблюдений), Азермешер. Баку, 1939.
4. Страхов Т. Д. Процессы дегенерации возбудителей головни хлебных злаков и их значение в почвенной инфекции. XIX пленум секции защиты растений ВАСХНИЛ. Тезисы докладов. Вып. 4. Сталинабад 1949.

О НЕПРЕРЫВНОЙ СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЗ ПРОИЗВОДСТВА [1]

В. И. Кудрявцев

1. Расы дрожжей, используемые в бродильной промышленности

Существует много рас (сортов) дрожжей, которые применяются при производстве спирта, пива, вина, хлеба и т. д. Если мы ознакомимся с историей самых распространенных из них на наших советских заводах, то легко убедимся в большой давности их выделения.

Приведу примеры. Почти все заводы нашей спиртовой промышленности, работающие на хлебокартофельном сырье, используют следующие культуры дрожжей: раса II — выделена в 1889 (Глаубиц [7]); раса XII — в 1902 г. [7]; раса «М» — смесь нескольких рас, предложенная в 1905 г. [7]. Паточные спиртовые заводы работают главным образом с дрожжами расы «Я», выделенными Якубовским в 1924 г. из местных паточных дрожжей [25]. Около 65—70% заводов пивоваренной промышленности применяют дрожжи расы 776, которая была выделена в начале XX в.

Лишь в виноделии почти все производственные культуры дрожжей своего местного происхождения. К тому же они были выделены значительно позднее. Из них особо широким распространением пользуются следующие: Магарач 5 и 7 — выделены в 1924 г; Пино 14 и 15, Алиготэ, Массандра 3 и др.— выделены в 1928 г. (цит, по Саенко [17]). Москва 30 и 31, Казань 28, Весьегонск 2 и 3, Малиновая и др. выделены в 1938 г. (Чаленко [22]) и т. д. Вместе с ними применяются и некоторые иностранные, например, две расы Штейнберг, выделенные в Германии в 1892 и 1893 гг. Шампань-Аи и др.

С момента выделения, т. е. в течение от 12 до 60 лет, ни одна из этих культур ни разу, так сказать, «не видела» производства. Они размножаются, как известно, в весьма однообразных «музейно-пробирочных» условиях, имеющих к тому же очень мало общего с производственными. Тем не менее отвивки из этих культур рассылаются по заводам, где из них готовят новые чистые маточные закваски каждый раз, когда старые загрязняются и выбрасываются. Если к этому добавить, что одна и та же музейная культура вынуждена развиваться на заводах, хотя бы и одной отрасли промышленности, но подчас с весьма разными местными условиями, то станет ясным, что такой общепринятый сейчас метод работы находится в вопиющем противоречии с вскрытым Мичуриным и Лысенко законом природы, гласящим, что каждый данный организм развивается наилучшим образом лишь при максимальном удовлетворении его требований к условиям жизни. Только игнорированием этого закона в отношении микроорганизмов можно объяснить, например, следующие факты, имеющие прямое отношение к вопросу об эффективности наших «микробных» производств.

---

[1] Доложено на заседании Ученого совета Института микробиологии АН СССР 27.XII.1949 г. и на конференции по микробиологии 7—12.VII 1950 г. в Ялте.

2. Ослабление и вырождение производственных микроорганизмов в музейных условиях

Давно уже известно, что некоторые производственные бактерии (уксусные, молочнокислые и др.), выделенные в чистые культуры и тем самым изолированные от своих привычных условий жизни, быстро теряют свои полезные качества, а нередко и погибают. Это заставило соответствующие производства или совсем отказаться от использования музейных культур (например, при приготовлении уксуса), или принимать специальные меры, задерживающие время вырождения таких культур (см. ниже).

Несколько лучше как будто обстоит дело с дрожжами. Но и они вырождаются в наших музеях. Так, например, с конца прошлого столетия было предложено огромное количество в свое время действительно прекрасных рас винных дрожжей. Но почти все они быстро теряли свойства при жизни в музеях и заменялись новыми, вновь выделяемыми из самозабродивших соков ягод.

Нечто подобное происходило и с культурами хлебопекарных дрожжей.

Более стойкими кажутся пивные и спиртовые дрожжи. Из приведенных выше данных видно, что широко применяемые сейчас культуры этих дрожжей выделены еще 45—60 лет назад. Однако и эти дрожжи не являются исключением. Они тоже вырождаются, хотя более медленно, а потому и менее заметно. Для доказательства, что это действительно так, приведу следующие сопоставления производственных качеств современных музейных и прежних дрожжей, которыми пользовались на пивных заводах до того, как были введены чистые культуры. Известно, что каждая смена маточных дрожжей на наших пивоваренных заводах используется не больше 10 производственных оборотов, т. е. в течение двух, двух с половиной месяцев. За это время они загрязняются и поэтому заменяются свежими, вновь выведенными из чистой музейной культуры. Такой короткий срок использования дрожжей регулируется соответствующими официальными инструкциями и, следовательно, считается вполне нормальным. Между тем раньше — до введения в бродильную промышленность заквасок из музейных культур — заводские дрожжи не сменялись десятками, а может быть и сотнями лет.

Об одном таком факте свидетельствует сохранившееся письмо владельца известного Карлсбергского пивоваренного завода (на котором Ганзен разработал свой метод чистых культур) Якобсена своему другу — некоему Сельдмайеру, владельцу пивоваренного завода в Мюнхене. Письмо было датировано 7. V 1884 [2]. Касаясь истории дрожжей своего завода, он писал: «Как Вы знаете, в 1845 г. (т. е. 39 лет назад.— *В. К.*) я сам перенес из Вашего завода низовые дрожжи к себе в Данию и с тех пор, никогда не меняя, размножал их с самыми лучшими результатами. Мое лагерное пиво было известно своей превосходной прочностью как внутри страны, так и при экспорте его в Индию». Далее он жаловался, что лишь за последние два года он стал замечать изменение прочности пива, причиной которого были некоторые упущения в работе, и т. д.

Ни один современный пивоваренный завод не сможет похвастать такими результатами, хотя техническое оборудование и санитарно-гигиеническое состояние их сейчас во много раз лучше, чем это было раньше. Отсюда ясно, что прежние дрожжи были более сильными, чем современные. Они значительно успешнее могли бороться с постоянно поступающей в пивное сусло инфекцией и тем не менее оставаться чистыми в

[2] Письмо это, но по другому поводу, было напечатано в статье Luers и Weinfurtner, 1931, 33.

течение десятков лет. Причины этого заключаются, с одной стороны, в ослаблении современных музейных культур, а с другой — в усилении их конкурентов (сорняков брожения). Последние попрежнему развивались в производстве и, не встречая здесь должного отпора, усиливали свои приспособления. Поэтому сейчас они быстрее берут верх над музейными дрожжами, несмотря на численное превосходство последних, которое мы намеренно создаем внесением маточных заквасок, и на всевозможные (подчас весьма дорогостоящие) предосторожности, которые мы применяем против попадания инфекции.

3. Попытки преодолеть отрицательные стороны работы с музейными культурами

Попыток было довольно много, но основные усилия исследователей сводились к следующему.

А. Выделение новых производственных рас взамен утерявших свои качества старых. Этот прием применялся и применяется во всех отраслях бродильной промышленности, причем, например, в виноделии новые культуры всегда выделяются из естественно забродивших ягодных соков. Нетрудно видеть, что таким путем достигается лишь временный успех. Вновь выделенные культуры рано или поздно вырождаются в музеях и снова должны заменяться новыми.

Б. Длительное сохранение музейных культур без размножения — в высушенном состоянии или при низкой температуре. Действительно таким путем удается несколько задержать вырождение вновь выделенных музейных культур, но в конце концов оно все же наступает. Кроме того, почти каждое бродильное производство заинтересовано не только в сохранении существующих качеств микроба, но и в усилении их, в приобретении новых хозяйственно полезных качеств. Эта же задача остается в тени.

В. Удлинение сроков работы производственных микроорганизмов на производстве. Уже давно было замечено, что новые заводские дрожжи, приготовленные из музейных культур, в первое время работают хуже, чем старые. Поэтому также давно усилия исследователей были направлены к тому, чтобы предупредить инфекцию производственных субстратов или освободиться от нее и тем самым удлинить работу заводских дрожжей. С этой целью разрабатывались различные сложные конструкции бродильных аппаратов, имеющие своей целью вести весь заводской процесс в абсолютно стерильных условиях, предлагались различные антисептики, затрудняющие развитие сорняков брожения, а также разнообразные способы очистки производственных дрожжей [2, 4, 6, 15]. Все эти приемы в большей или меньшей степени удлиняли период работы заводских заквасок. Но последние все-таки загрязнялись. Кроме того, ни один из этих приемов не затрагивал основной проблемы — улучшения качества производственных микроорганизмов. Загрязненные заводские закваски попрежнему выбрасывались и заменялись новыми, приготовленными из музейных культур. Нарастающее же вырождение музейных культур приводило к тому, что эффективность указанных дополнительных приемов также снижалась. Поэтому постоянно были озабочены поисками новых приемов.

Так продолжалось до известной всем сессии ВАСХНИЛ (1948), на которой закон Мичурина — Лысенко о единстве организма и требуемых им условий жизни получил, наконец, всеобщее признание. Одновременно стали очевидными и многие дефекты микробиологических методов работы. Первым следствием этого во многих случаях было изменение условий развития производственных микроорганизмов в музеях: их стали культивировать не на твердых (агаровых) средах, а на жидких, причем

стали придерживаться именно тех субстратов, в которых данные культуры обычно развиваются на производстве.

Новые условия жизни микроорганизмов стали в результате ближе к производственным. Но нетрудно видеть, что и они еще далеко не удовлетворительны.

В самом деле, многие производственные микроорганизмы, в частности сахаромицеты, размножаются в жидких средах только вегетативно. При этих условиях, как правило, они не образуют спор. В результате у них полностью выключается из жизни и половой процесс, происходящий обычно при прорастании спор. Как отразится такое искусственное укорочение цикла развития на дальнейшей эволюции их производственных качеств, мы пока ничего не можем сказать. Кроме того, даже в жидких средах в пробирках условия развития музейных культур далеко не идентичны условиям жизни их на производстве. При этом, например, полностью выключается одно из важнейших производственных качеств микроба — сопротивляемость против инфекции, не говоря о ряде других свойств, которые также не могут проявиться в пробирочных культурах.

В конечном счете все это неизбежно снова поведет к вырождению музейных культур. Но самый главный дефект нашей работы в настоящее время заключается в том, что даже после победы передовой мичуринской биологии вновь обходится основной вопрос — об улучшении качеств наших производственных микроорганизмов и о выведении новых рас их с новыми, более ценными для нас свойствами. Между тем сейчас имеются уже все основания не только ставить такую проблему, но и успешно разрешить ее. Разберем эти основания в некоторой исторической последовательности.

4. Как сложился современный метод использования микроорганизмов в бродильной промышленности

Как известно, в конце прошлого века на смену прежним заводским заквáскам, представлявшим собой часто смесь весьма разнообразных микроорганизмов, пришли чистые культуры лишь определенных микробов.

Эта реформа была подготовлена еще исследованиями Пастера, но окончательно завершена Ганзеном (Hansen, 1881—1883 [28]). Выделив из маточной закваски Карлсбергского пивоваренного завода, дававшего тогда плохое пиво, ряд чистых культур дрожжей, испытав их качества, Ганзен отобрал из них ту лучшую культуру, на которой было получено лучшее пиво, и приготовил из нее новую маточную закваску. Пиво оказалось безупречным. С этого времени Карлсбергский завод стал работать только на чистой культуре дрожжей.

Этой же культурой Ганзена немедленно воспользовались и другие пивоваренные заводы, нуждавшиеся в смене своих заквáсок. Результат превзошел всякие ожидания. То, что раньше считалось искусством отдельных пивоваров, становилось достоянием всех, кто начинал пользоваться чистой культурой Ганзена [1, 28, 33].

Очень скоро и с тем же успехом метод чистых культур был перенесен затем в винокурение, в виноделие и в другие производства, связанные с использованием микроорганизмов. В каждой отрасли промышленности стали выделять свои чистые культуры.

Но и здесь на первых порах произошло то же самое, что и в пивоварении. Из-за поразительного успеха нового метода спрос на культуры был выше предложения. Культуры, выделенные вначале в Дании и затем особенно в Германии, пересылались даже в другие страны, где эта работа еще не была налажена, в частности и в Россию [18, 19]. В результате заводы почти всего мира стали пользоваться чистыми куль-

турами, выделенными преимущественно не из собственной закваски, а из закваски чужого завода, откуда она была получена и где показала лучшие результаты. И если, как можно думать сейчас, она и не была столь эффективна на других заводах с несколько иными условиями, то во всяком случае давала там значительно лучшие результаты, чем прежняя загрязненная закваска, и поэтому охотно применялась хозяевами предприятий.

Так сложилась тогда и затем дошла до нас указанная выше практика, по которой культуры, оказавшиеся хорошими в условиях одного завода, как правило, считались и считаются сейчас пригодными и в любых других заводах той же отрасли промышленности.

Но дело не ограничилось только этим. Чтобы предупредить вторичное загрязнение новых маточных заквасок, Ганзен уделял большое внимание улучшению санитарно-гигиенического состояния заводов. Однако он очень скоро убедился на практике, что полностью предотвратить инфекцию заводских дрожжей нельзя и что через некоторое время в заторах снова развиваются сорняки брожения.

Как известно, Ганзен нашел тогда самый простой выход из этого затруднительного положения. Как только новые дрожжевые закваски загрязнялись, он выбрасывал их и заменял новыми, приготовленными из ранее выделенной и отобранной культуры, сохранявшейся в заводском музее. Нормальная работа завода в результате снова восстанавливалась до нового загрязнения заквасок.

Так сложилась тогда и дошла до нас вторая сторона указанной выше практики, по которой раз отобранная и сохраняемая с тех пор в музейных условиях культура стала постоянным источником новых — чистых заводских заквасок, сменяющих старые, загрязнившиеся.

Работа по этому методу представлена на прилагаемой схеме (см. рис. 1).

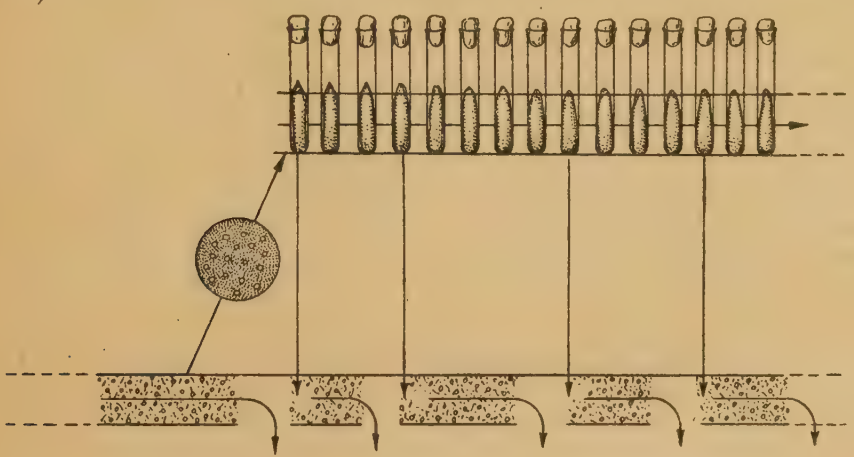


Рис. 1. Однократный отбор, музейное хранение и смена производственных дрожжей, установившиеся после введения в промышленность чистых культур по Ганзену

Такой метод работы сложился, однако, не только в результате приведенных выше и в сущности временных затруднений. Они могли бы быть легко преодолимы впоследствии, если бы этому не помешали тогда более серьезные обстоятельства.

В одной из своих работ Ганзен [29] приравнивал свой метод отбора производственных культур дрожжей к тому методу, который, по его словам, давно уже применялся в садоводстве и в сельском хозяйстве.

Но это не совсем так. Известно, что селекционеры сельскохозяйственных растений и животных добились своих поразительных успехов, при-

меняя метод не однократного, а непрерывного повторного отбора на племя лучших экземпляров внутри уже разводимого сорта или породы. Однако ни Ганзен, ни его последователи никогда не требовали такого же метода в отношении микроорганизмов [3]. Чем это объяснить?

Если мы обратимся к истории биологии, то увидим, что в то время как Ганзен проводил упомянутые выше исследования, в общей биологии происходили серьезные события. Теория эволюции Дарвина все больше оттеснялась автогенетическими теориями развития (Негели — Гартмана — Кернера — Вейсмана, позднее де-Фриза и других).

По этим теориям наследственные качества организмов изменяются будто бы только в результате внутренних и ближе не известных причин (мутации). Правда, авторы этих теорий не отрицали изменений, происходящих и под влиянием условий жизни организмов, но считали их преходящими, летучими, ненаследственными, легко исчезающими с переменой этих условий (модификации). Поэтому им-то эти авторы и не придавали никакого значения в эволюции организмов.

К концу XIX и началу XX в. указанные теории, объединившиеся в одну общую автогенетическую теорию, почти полностью заменили собой в умах исследователей высших организмов учение Дарвина, о чем и писал в то время известный систематик Веттштейн [3]. То же самое произошло и в микробиологии. Именно с этим было связано тогда автогенетическое решение и проблемы вида у микроорганизмов, на чем мы сейчас не можем останавливаться, и вопроса об отборе производственных культур.

Ганзен [30] и его последователи (см. Klöcker [31] и др.) считали, что используемые в промышленности свойства дрожжей, как, например, отношение к сахарам, врождены и не поддаются изменениям под влиянием условий существования. Именно поэтому они и удовлетворялись однократным отбором производственных культур микроорганизмов и не ставили вопроса об их дальнейшем улучшении под влиянием условий жизни. В результате отбор по методу Ганзена свелся к однократным поискам лишь случайно полезных для нас организмов из тех, которые уже существуют в природе, и последующему чисто механическому ограждению их от инфекции. По той же самой причине они не увидели ничего одиозного и в том, что микроорганизмы, выделенные на одном заводе и развивавшиеся там при одних условиях, рассылались затем и в другие заводы даже различных стран мира, где условия жизни не были и не могли быть идентичными. И, наконец, та же причина лежала в основе практики бесконечного культивирования производственных микроорганизмов вне производства, т. е. в условиях музеев.

Вследствие весьма специфических причин эти автогенетические представления и вытекающая из них практика поддерживались официальной наукой, несмотря на то, что они давно уже вступили в глубокое противоречие с фактами. Напомню кратко об этих фактах.

5. Организм и необходимые для его жизни условия представляют единство

В нашей советской действительности этот основной тезис мичуринской биологии не вызывает уже никаких сомнений. Но доказан он наблюдениями и опытами главным образом над высшими организмами. Что же ка-

[3] Правда, в 1924 г. этого вопроса коснулся ученик Ганзена Клёкер (Klöcker [32]). В начале своего изложения (см. стр. 244) он как будто даже положительно относился к возможности улучшения производственных микроорганизмов путем повторного отбора из них лучших. Но затем (весь вопрос изложен на стр. 233—246) он привел такую массу критических замечаний и пессимистических высказываний, что в результате сама идея потеряла всякое значение, и к ней больше не возвращались.

сается низших, то в науке о них до сих пор еще далеко не преодолено представление, по которому эти организмы (за исключением, правда, облигатных паразитов) являются будто бы космополитами, неразборчивыми по отношению к субстратам обитания и мало стесняющимися экологическими условиями (см. Ячевский [26], стр. 249). Между тем, уже с 1888—1889 гг. стали доказывать, что, например, серо-, железо- и другие бактерии очень тонко приспособлены к своим условиям жизни и не развиваются при малейшем изменении этих условий.

Эти наблюдения привели тогда Виноградского к разработке известного метода элективных культур, который быстро заменил собой прежние вульгарные автогенетические попытки бактериологов культивировать различные по природе микроорганизмы на одной и той же питательной среде. Можно с полным правом утверждать, что микробиология как наука заняла свое современное положение в сельскохозяйственной, промышленной и медицинской практике в значительной мере на основе этой глубоко материалистической идеи элективного культивирования, отражавшей собой упомянутый выше закон Мичурина — Лысенко о единстве организма и требуемых им условий жизни.

Доказательства правильности этого закона по отношению к микроорганизмам мы находим также в многочисленных и весьма давних опытах направленного изменения их свойств при измененных условиях жизни (Dallinger [27]). Этими опытами было твердо установлено, что если повторно культивировать микроорганизмы, например, при постепенно повышающейся температуре или концентрации ядов, солей и т. д., то можно получить от них новые формы, способные жить и размножаться при таких соответственно новых условиях, при которых раньше они погибали. Доказано также, что аналогичным путем возникают и новые ферменты, в результате чего их обладатели становятся способными усваивать новые для них питательные вещества, которых они раньше не усваивали.

Выше были отмечены некоторые факты строгой приуроченности сапрофитных бактерий к своим местообитаниям. Аналогичная закономерность доказана сейчас и в отношении дрожжей, особенно рода Saccharomyces, о котором мы располагаем наибольшими сведениями. Выяснено при этом, что каждый вид этого рода наиболее активно развивается только в определенном месте экономии природы, а поэтому вовсе не встречается или встречается крайне редко в других местах, занятых другими видами (Кудрявцев [9, 10]).

Представители официальной науки раньше никогда не придавали должного значения всем этим фактам. Между тем, как мы видим сейчас, эти факты вполне убедительны, чтобы признать, с одной стороны, ложность автогенетической идеи о космополитизме микробов, а с другой — полную подчиненность последних закону Мичурина — Лысенко о единстве организма и требуемых им условий жизни.

6. К вопросу о происхождении культурных дрожжей

Сторонники теории автогенеза всегда утверждали, что новые свойства организмов возникают независимо от условий их жизни (мутационно) и что, таким образом, обладатели новых свойств занимают новые обитания, будучи уже заранее приспособленными к условиям этих обитаний. Так объяснялось, в частности, и происхождение культурных дрожжей. Ложность этого тезиса ясна для нас уже из изложенного выше. Но мы располагаем сейчас и другими фактами, прямо относящимися к вопросу о происхождении некоторых культурных микроорганизмов. Известно, что свойства, например, спиртовых и пивных дрожжей в наибольшей степени (по сравнению с другими дрожжами) соответствуют тем условиям, в которых они постоянно живут на производстве, и тем требованиям, которые предъявляет к ним человек при получении пива и спирта.

Важнейшими из этих свойств, благодаря которым человек только и заботится об их разведении, являются сбраживание ими углеводов, возникающих при осахаривании крахмала хлебных злаков, картофеля и т. д. (мальтозы и простых декстринов), и образование из них максимального количества спирта. При более тщательном изучении данного вопроса видно, что свойства эти необходимы пивным и спиртовым дрожжам только в условиях соответствующих производств. Ибо в естественной природе мальтоза, например, встречается крайне редко и притом в таких условиях, в которых она недоступна для дрожжей (в листьях настурции, в бобах сои), а декстрины вовсе не встречаются в природе в свободном виде, как начальный продукт. В то же время эти углеводы, и притом в специально создаваемых для брожения условиях, имеются в хозяйстве человека, открывшего способы осахаривания крахмала (Шорыгин [24]). В полном соответствии с этим распределяются, как оказалось, и указанные выше дрожжи. Наши многолетние исследования дрожжевой флоры самых разнообразных природных субстратов в географически различных местах Советского Союза показали нам, что дрожжи с бродильными свойствами пивных или спиртовых дрожжей не встречаются ни в одном из обследованных субстратов. Однако они всегда имеются в сбраживаемых заторах пивных и спиртовых заводов.

Приведенные факты ясно указывали нам, что свойства современных пивных дрожжей и в первую очередь способность сбраживать мальтозу и простые декстрины возникали под влиянием условий жизни, в которых с незапамятных времен развивались их дикие предки в хозяйстве человека. Эта мысль была подтверждена затем и прямыми опытами культивирования некоторых диких дрожжей (Sacch. paradoxus и Sacch. coreanus) в солодовом сусле, богатом, как известно, мальтозой и декстринами. При этом мне удалось получить от них новые культуры, способные сбраживать указанные углеводы (Кудрявцев [9, 10]). Данные о сбраживании декстринов получены позднее.

Таким образом, факт происхождения современных культурных дрожжей типа пивных и спиртовых от диких, их свойствами не обладавших, не подлежит сейчас никакому сомнению.

Как видно из истории приготовления человеком алкогольных напитков, началом современного пива следует считать водные настои зерен хлебных злаков, которые первобытный человек собирал впрок и размачивал затем в воде в целях питания ими [5, 8, 11, 14, 20, 34]. Попадая в эти настои зерен с ягод или других природных субстратов, приспосабливаясь к жизни в новых условиях, дикие дрожжи и молочнокислые бактерии сбраживали имеющиеся здесь в небольшом количестве глюкозу и сахарозу, изменяли вкус настоев, делая их более приятными и более удобоваримыми для человека. Это ощущение должно было стать еще более заметным, когда некоторые зерна прорастали, обогащая подобные настои новыми сахарами — мальтозой и декстринами, и когда живущие в них дрожжи приобрели способность сбраживать их.

В постоянном стремлении улучшать качество таких, вначале случайно полученных алкогольсодержащих продуктов, человек в продолжение многих тысячелетий эмпирически, шаг за шагом, вырабатывал все более лучшие способы их получения. Тем самым он постоянно и в определенном направлении изменял условия жизни возбудителей полезных ему брожений, пока не создал современную бродильную промышленность и современные промышленные микроорганизмы. Этот фактически и исторически вполне обоснованный вывод открывает нам совершенно иные, чем раньше, перспективы дальнейшего окультуривания как старых, так и новых микроорганизмов.

7. О непрерывной селекции производительных микроорганизмов из производства

Известно, что все существующее разнообразие сортов культурных растений и пород домашних животных создано и создается человеком путем повторного (непрерывного или многократного) отбора лучших особей из потомства, ранее признанных им лучшими при одновременном улучшении и условии их жизни (Лысенко [13]). До конца прошлого столетия таким же путем создавались и расы культурных микроорганизмов. Однако между методами селекции высших и низших имело место и некоторое различие. В то время как в первом случае уже давно поняли преимущество индивидуального отбора лучших особей, во втором еще продолжали пользоваться отбором сразу массы лучших особей в виде

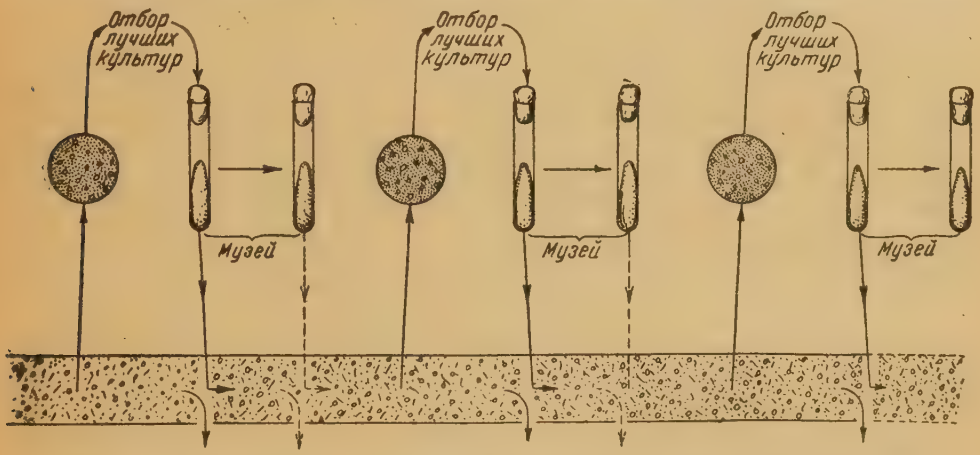


Рис. 2. Непрерывная селекция производственных дрожжей из производства

лучших заквасок, которые и применялись для возбуждения нового брожения в свежих субстратах. Это был чисто эмпирический прием, ибо о существовании микроорганизмов тогда даже не подозревали. Но его действительно применяли и он сохранился даже до нашего времени, например, при производстве уксуса [4].

Понятно, что отбор сразу массы лучших особей давал лишь в среднем лучшие результаты, так как в любой хорошей закваске имеются одновременно и лучшие и худшие организмы. Поэтому естественно, что когда была выяснена истинная причина брожений и когда были открыты способы получения культур из одного микроба, то старый метод отбора был заменен новым методом индивидуального отбора. Однако, как мы видели выше, под влиянием автогенетических идей исследователи, начиная с Ганзена, ограничивались только однократным отбором производственных микроорганизмов. Изолировав эти организмы в пробирки и таким образом оторвав их от условий, которыми они были созданы, автогенетики пришли к неизбежному результату: отбираемые культуры вырождались в музеях. Это затормозило прогресс соответствующих производств, заставив последние в ряде случаев лишь приспособляться к свойствам таких культур и искусственно оберегать их от конкурентов. Чтобы покончить с этим, мы должны, очевидно, полностью отказаться от приведенной выше схемы использования производственных микроорганизмов и заменить их новой схемой, которая основана на ином принципе и которая представляется мне сейчас в виде схемы, изображенной на рис. 2.

Предлагаемый метод работы имеет в виду приготовление свежих за-

[4] О значении закваски знали еще в древнем Египте [14, 34, 35].

водских заквасок постоянно только из тех лучших микроорганизмов и их потомств (культур), которые будут периодически повторно выделяться из лучших образцов сброженного ими сырья по возможности на каждом заводе или группе однотипных заводов с одинаковыми условиями жизни в них. Если такие микроорганизмы, как видно из схемы, и будут выключаться из жизни на производстве, то лишь на то короткое время, которое необходимо для выделения чистых культур, сравнительного изучения их и отбора наиболее эффективных. Тем самым каждый завод или группа однотипных заводов вновь (после 70 лет, прошедших с введения в практику чистых культур) приобретет возможность непрерывно воздействовать на природу своих микроорганизмов, изменять и улучшать их в соответствии с теми изменениями, которые они сами будут испытывать в связи с исторически меняющимися требованиями человека к продуктам жизнедеятельности микробов.

В целях повышения эффективности такого изменения микроорганизмов в нужную нам сторону мы сможем при новом методе пользоваться и вспомогательными, по выражению Тимирязева [21], приемами селекции — такими, как, например, гибридизация [5], а также и предварительно направленное изменение их в лабораторных условиях, как это сделала, например, недавно Саенко с хересными дрожжами [6]. Эти вспомогательные приемы могут оказать нам существенную помощь в выведении новых производственных рас микробов, ибо, как бы ни были удачны изменения их в лабораторных условиях, полученные таким путем культуры никогда сразу не дадут нужного эффекта на производстве. И это понятно, так как условия жизни в нем не тождественны с лабораторными. Чтобы такая лабораторная культура стала производственной расой, она должна приспособиться к заводским условиям. Этой цели и служит непрерывная селекция лучших организмов из производства. Когда еще с января 1939 г. я выступил с предложением начать практическую разработку этого нового метода работы, оно не было поддержано. Слишком велик был авторитет существующего метода однократного отбора. Он помешал также по-настоящему оценить пионерский опыт технорука Овечачьского паточного спиртозавода на Украине К. Ю. Якубовского, который в течение ряда лет отбирал на своем заводе все более лучшие дрожжи и, используя их только в качестве новых заквасок, в 1924 г. вывел новую прекрасную расу «Я». Больше того, по той же причине широкая научная общественность Советского Союза узнала об этом опыте спустя лишь 11 лет, когда раса «Я» уже широко применялась на всех наших спиртово-паточных заводах, и к тому же не от самого автора (см. Шмелев [23]). В результате ценный практический опыт Якубовского лишь с большим опозданием нашел свое продолжение в работе сотрудницы Киевского технологического института Лещинской [12]. Из ее отчетов за 1937—1938 и за 1948—1949 гг. видно, что практически она поставила себе очень ясную задачу: «выявить новые производственно более эффективные штаммы дрожжей из XII расы (а затем и из расы «Я».— *В. К.*), уже несколько месяцев проработавшей на производстве». И она действительно выделила такие расы из маточных дрожжей. По ее словам, они «глубже выбраживали заторы и сильнее размножались, чем музейные культуры». Более успешно справлялись они и с инфекцией этих заторов [7]. Выведенные Лещинской новые паточные дрожжи уже с успехом применяются некоторыми заводами Украины.

---

[5] Разумеется, если в цикл развития данных организмов входит половой процесс.

[6] Постепенно повышая процент спирта в вине, на поверхности которого развивались хересные дрожжи, автор получил в лабораторных условиях такие культуры этих дрожжей, которые вызывали хересование вина в присутствии 16—17% спирта вместо прежних 14,5.

[7] Мне представляется, что результаты работы автора были бы еще более ценными, если бы новые культуры выделялись ею не из маточных, а из производственных дрожжей после окончания брожения.

К сожалению, и опыт Лещинской пока остается не известным широкой научной общественности. Независимо от Лещинской и почти одновременно с ней в 1938 г. аналогичную работу с винными дрожжами начал Рябченко [16]. Автор выделял новые культуры из производственных осадков дрожжей расы Штейнберг (1892) и Кахури III (1936) после шампанизации вин. Некоторые из выделенных культур оказались значительно лучшими, чем музейные, и поэтому они с успехом заменили последние на заводе.

Данные Лещинской и Рябченко очень важны для нас. Они на практике и, следовательно, вполне объективно подтверждают правильность сделанного выше анализа проблемы происхождения некоторых современных культурных микроорганизмов и возможность дальнейшего изменения их в нужном нам направлении.

Новый метод предполагает также полную перестройку работы существующих музеев живых культур. Из учреждений, сейчас лишь формально связанных с заводами (через периодические посылки им постоянно одних и тех же, но в значительной мере чуждых им культур), музеи должны превратиться в активных помощников заводов, доставляющих им каждый раз лучшие культуры производственных микроорганизмов, выделенных из заквасок этих же заводов. Вместе с тем они должны будут заботиться и о создании там соответствующих условий жизни этим культурам, чтобы получить от них максимальный производственный эффект. Только такая задача музеев, превращенных в селекционные лаборатории при заводах, была бы в наше время действительно научной и действительно целесообразной.

Естественно, что вся эта работа не может быть осуществлена сразу и в первую очередь из-за отсутствия на местах соответственно квалифицированных кадров микробиологов и биохимиков. Но там, где они есть, — им должна быть предоставлена возможность заниматься разработкой метода непрерывной селекции производственных микроорганизмов из производства. Это необходимо потому, что имеющийся в настоящее время опыт такой селекции еще очень невелик. Поэтому и методы работы еще недостаточно ясны. Тем не менее, учитывая этот опыт, а также прошлый опыт однократного отбора производственных культур, можно уже сейчас сформулировать некоторые конкретные рекомендации, помня, однако, что они потребуют тщательной критической проверки и уточнения. Эти рекомендации можно свести пока к следующему.

1. Повторное выделение и отбор лучших рас производственных микроорганизмов из производства следует проводить так часто, как это возможно. При этом микробиологическому анализу должны подвергаться пробы дрожжей лишь из тех танков, чанов, бочек и т. д., в которых был получен продукт, наиболее отвечающий требованиям данного производства.

2. При выделении культур из таким образом отобранных проб необходимо пользоваться тем субстратом, на котором данные микроорганизмы развивались и будут развиваться в производстве. Важность этой рекомендации определяется наблюдениями, согласно которым изменения микробов, впервые возникшие под влиянием данных условий жизни, вначале мало стойки и могут исчезнуть в других условиях.

3. Нет точно установленных правил — сколько культур нужно выделить из каждой анализируемой пробы, чтобы обнаружить среди них особо ценную для производства. Обычно выделяют 30—50 культур. Однако известны случаи, когда требовалось изучить для поставленной цели около 100 культур. Для окончательного решения этого вопроса нужны специальные исследования.

4. При сравнительном изучении выделенных культур и отборе из них лучших следует пользоваться теми показателями, которые считаются обязательными при практической оценке производимого микроорганизмами

продукта. Лучшими культурами окажутся, очевидно, те, которые в наибольшей степени удовлетворят требованиям данного производства по сравнению с другими и с исходной расой.

5. Имеются серьезные основания считать, что смеси лучших культур более эффективны на производстве, чем те же культуры, взятые в отдельности. Поэтому следует практиковать введение в производство смесей лучших культур. Но для окончательного решения этого важного вопроса также требуются специальные исследования.

6. Все культуры, показавшие лучшие результаты по сравнению с исходной производственной культурой, должны вводиться (при строгом соблюдении существующих правил аппробации) в производство вместо прежней.

7. Так же следует поступать и в тех случаях, когда вновь отбираемые культуры как будто ничем не отличаются от уже работающей на производстве. Отдавая им предпочтение, мы будем тем самым помогать закрепляться в них тем изменениям, которые уже имеют место под влиянием измененных условий существования на заводе, но которые еще не получили заметной (для наших методов исследования) степени выражения.

8. В тех случаях, когда применяемая сейчас раса микроба не вполне удовлетворяет требованиям данного завода, ее не следует брать как исходную в целях дальнейшего улучшения. Необходимо вначале пытаться найти для этого более подходящую расу.

9. Отобранные из анализируемой пробы лучшие культуры тщательно паспортизируются и передаются в производство и лишь про запас и с научными целями сохраняются в музее. Остальные уничтожаются.

Следует еще раз подчеркнуть, что способы хранения производственных культур в музеях неудовлетворительны и требуют серьезного пересмотра. Однако нужно, мне кажется, предостеречь от наблюдающегося сейчас скороспелого перевода музея целиком на новый режим, с пересевом всех культур на новые, якобы более подходящие питательные среды, без предварительных исследований всего этого вопроса. Как, казалось бы, ни плохи старые методы хранения музейных культур, но, пользуясь ими, мы все же гарантированы по крайней мере от неожиданностей. Новые же методы еще недостаточно изучены. Поэтому до известного времени наравне с разработкой новых методов хранения не следует пренебрегать и старыми. Недостатки же последних будут в значительной степени нейтрализованы повторным отбором и обновлением культур из производства.

Очень важно, чтобы при разработке метода непрерывной селекции производственных микроорганизмов из производства был налажен широкий обмен опытом.

Нет никакого сомнения в том, что первые же успешные результаты по выведению новых рас производственных микроорганизмов, которые повысили бы количественные и качественные показатели выполнения производственных планов на одном-двух заводах, немедленно вызовут подражание. Это сразу же развяжет творческую инициативу не только микробиологов и биохимиков, но и целых заводских коллективов, что явится лучшей почвой для окончательного и всеобщего перехода к новому методу работы.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 14. X. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архив русского пивоварения, № 7 и 8, 1881.
2. Веселов И. Я. и Клейменова А. А. Промывание дрожжей низового брожения серной кислотой. Сб. н.-иссл. работ сектора пивовар. пром. ЦНИЛБП. РСФСР, 1939.

3. Веттштейн Р. 1901. Руководство по систематике растений. Перевод с нем., Москва, 1903.
4. Вишняцкий Г. Переливной метод сбраживания зернокартофельных заторов. Спиртоводочн. промышл., № 10, стр. 5, 1939.
5. Георгиевский Н. Об отношении кваса к пиву. Диссертация. СПб., 1875.
6. Гладкий Ф. Непрерывное брожение при переработке патоки на спирт. Спиртовая промышл., № 5, стр. 20, 1938.
7. Глаубиц М. Атлас микроорганизмов брожения. 1935.
8. Костомаров Н. И. Очерк домашней жизни и нравов великорусского народа в XVI и XVII столетии. 1860.
9. Кудрявцев В. И. Эволюция ферментативных свойств у дрожжей рода Saccharomyces. Микробиология, VIII, 393, 1939.
10. Кудрявцев В. И. О самостоятельности видов S. cerevisiae и S. ellipsoideus. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
11. Лебедев С. В. Алкогольные напитки, алкоголь и промышленность алкогольного брожения. 1928.
12. Лещинская С. С. Отчеты о работе за 1937—1938 гг. и за 1948—1949 гг. Из научно-исслед. сектора по спирту Киевского технол. ин-та пищ. промышл. Рукопись.
13. Лысенко Т. Д. О положении в биологической науке. Москва, 1948.
14. Любавин Н. Н. Техническая химия, 3-я часть, вып. 4, Москва, 1924.
15. Ошмян Г., Светник Р., Подосенова Т. Многократное использование дрожжей в спиртовом производстве при переработке крахмального сырья. Спиртовая промышл., № 10, стр. 38, 1936.
16. Рябченко И. М. Дрожжи для шампанского производства. Тр. Краснодарского ин-та пищ. промышл., вып. 3, стр. 237, 1948.
17. Саенко Н. Ф. Дрожжи «Массандры». Винокомбинат «Массандра», Симферополь, 1940.
18. Ситников А. П. Чистые культуры дрожжей и разведение их на заводе Спиртовая промышл., № 7, стр. 39, 1936.
19. Таиров В. Е. Из истории введения в практику русского виноделия дрожжей чистой культуры. Микробиология, IX, вып. 1, 1929.
20. Тиандер К. Культовое пьянство и древнейший алкогольный напиток человечества. Журн. Министерства народн. просвещения, Новая серия, ч. XVIII, стр. 203—257, СПб., 1908.
21. Тимирязев К. А. Селекция. Сборник «Дарвинизм и селекция». М.—Л., 1937, стр. 64.
22. Чаленко Д. К. Новые расы дрожжей для плодоягодного виноделия. Винод. и виноград. СССР, № 4, 1948.
23. Шмелев В. К вопросу о происхождении дрожжей расы «Я». Брод. промышл. № 4, стр. 30—32, 1935.
24. Шорыгин П. П. Химия углеводов. 1932.
25. Якубовский К. Дрожжи расы «Я» для производства спирта из патоки. Спиртоводочн. промышл., № 3, стр. 18, 1938.
26. Ячевский А. А. К вопросу о видообразовании у грибов. Материалы из микологии и фитопатологии. Ленинград, 1927.
27. Dallinger W. H. The President's Address. J. of the Royal Microscopical Society, April, pp. 185—199, 1887.
28. Hansen Em. Chr. Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. C. R. des trav. du Laborat. de Carlsberg, t. II, livre 2, 1888.
29. Hansen Em. Chr. Qu'est-ce que la levûre pure de M. Pasteur? Une recherche expérimentale. C. R. des trav. du Laborat. de Carlsberg, t. III, livre I, 1891.
30. Hansen Em. Chr. Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. C. R. des trav. du Laborat. de Carlsberg, t. V, Livre 9, 1900.
31. Klöcker A. Ist die Enzymbildung bei den Alkoholgährungspilzen ein verwerthbares Artmerkmal? Ctbl. Bakt., II Abt., 6, 241, 1900.
32. Klöcker A. Die Gärungsorganismen. Berlin, 1924.
33. Luers H. und Weinfurtner F. Die Einführung der Hefereinzucht in den Brauereibetrieb. Die Hefereinzucht in der Entwicklungsgeschichte der Brauerei. Berlin, 1931.
34. Montét P. Les scènes do la vie privée dans les tombeaux égyptiens de l'Ancien Empire. Strassbourg. Paris, 1925.
35. Wahl A. S. a. Wahl R. Handbook of the American Breving Industry, vol. I, Chicago — Illinois, 1937.

АКАДЕМИК С. П. КОСТЫЧЕВ

М. П. Корсакова

Среди замечательных русских ученых — физиологов растений — С. П. Костычеву принадлежит особое место. Он сам любил называть себя биохимиком; действительно, широко охватывая все проблемы, связанные с жизнью растений, он стремился подходить к разрешению их с биохимической точки зрения, выясняя сущность процессов, связанных с жизнью организма. Те основные, теоретически важные вопросы, которые составляли круг его интересов, он разрешал со свойственным ему талантом, используя разнообразнейших представителей растительного мира, начиная от высших растений и кончая бактериями.

С. П. Костычев родился 26 апреля 1877 г.; его детство и ранняя юность протекала в исключительно благоприятной обстановке. П. А. Костычев, его отец, профессор Петербургского лесного института, был выдающимся ученым, одним из основоположников русского почвоведения и редким по своим качествам человеком; крестьянин, своими силами выбившийся на широкое поприще научной и общественной работы, он с ранних лет передавал сыну любовь к труду и знанию, руководил первыми его шагами в области изучения растений и гербаризации. Мать его тоже была замечательной женщиной, с широкими интересами и живым, критическим умом.

По окончании гимназии С. П. Костычев поступил в Петербургский университет; уже за время прохождения университетского курса ярко проявились его одаренность и интерес к физиологии растений. Уже в то время он твердо наметил свой жизненный путь как путь творческой научной работы.

По окончании Университета С. П. Костычев был оставлен при кафедре физиологии растений, которой руководил Д. И. Ивановский, для приготовления к профессорской деятельности. Совершенно самостоятельно, не следуя существующим традициям, он сразу нашел основное направление своих научных интересов как физиолог-биохимик; во время двух своих научных командировок за границу он целеустремленно работал, овладевая всеми новейшими для того времени методами биохимического анализа. В то время на кафедру физиологии растений Петербургского университета был избран В. И. Палладин, который начал проводить там свои знаменитые исследования по дыханию как сумме ферментативных процессов.

С. П. Костычев уже наметил собственное направление работ, применение точного химического анализа к изучению основных процессов растительного организма, но совместная работа с таким замечательным ученым, как В. И. Палладин, оказала на него большое влияние и содействовала развитию его исследовательской работы. До 1911 г. С. П. Костычев вел свои сложные и трудоемкие исследования исключительно своими собственными силами, без чьей-нибудь помощи. В лаборатории Военно-медицинской академии, где с 1903 г. он был ассистентом, и в лаборатории Технологического института, где с 1910 г. он был профессором, не было возможности организовать научную работу с учениками.

С 1907 г., после защиты диссертации на степень магистра ботаники на тему: «Исследование над анаэробным дыханием растений», С. П. Костычев начинает читать лекции в университете в качестве приват-доцента. В 1911 г. он защитил докторскую диссертацию «Физиолого-химические исследования над дыханием растений».

С первых своих исследований С. П. Костычев открыл новую страницу в истории русской науки. Точная и ясная постановка запутанных теоретических проблем, применение тонкого биохимического анализа к сложнейшему и с химической точки зрения почти не исследованному процессу дыхания растений, изучение этого процесса в связи с биологическими и физиологическими особенностями отдельного организма — вот те основные черты, которыми характеризуется научное творчество С. П. Костычева с самого начала. Ко времени защиты докторской диссертации С. П. Костычев опубликовал уже много научных работ, которые дали ему имя первоклассного исследователя-экспериментатора в области дыхания растений как в России, так и за границей.

С 1911 г. начинается новый период в жизни С. П. Костычева, когда он переходит от индивидуальной работы к коллективной и получает возможность на более широком поприще проявить свой большой организаторский талант. Получив в 1911 г. кафедру физиологии растений на Петербургских Высших женских курсах, он смог, путем вовлечения в научную работу группы сотрудниц, широко развернуть исследовательскую работу. В это время было положено начало ценнейшей серии работ по спиртовому

брожению. В дальнейшем научная деятельность С. П. Костычева все расширялась, захватывая все новые и новые отрасли. С 1914 г. он экстраординарный, а с 1916 г. ординарный профессор Петербургского университета. В 1922 г. он избран членом-корреспондентом Академии Наук, а в 1923 г.— ее действительным членом. В каждой лаборатории, во главе которой он становился, вокруг него быстро собиралась группа учеников, которых он вовлекал в круг своих интересов, заражая своим увлечением, и с которыми он любил делиться как своими собственными мыслями, так и своей обширной и разносторонней эрудицией. В Академии Наук СССР он нашел маленькую ботаническую лабораторию, основанную в 1889 г. академиком А. С. Фаминцыным и с тех пор не получившую развития. Благодаря своим организаторским способностям. С. П. Костычев превратил ее в обширную, превосходно оборудованную и приспособленную для самых тонких биохимических и физиологических исследований — Лабораторию биохимии и физиологии растений, с четко формулированной основной задачей «широкого изучения биохимических и физиологических процессов, происходящих в растениях». В связи с ходом его научных интересов объектами исследований С. П. Костычева в значительной мере являлись низшие растения: дрожжи, плесневые грибы и бактерии. Но в круг занимавших его проблем входили и многие, связанные с высшими растениями. Для изучения жизни растений в естественных условиях С. П. Костычев организовал прекрасную лабораторию с вегетационным домиком, оранжереями и опытными участками в Петергофском естественно-научном институте, где им, совместно с сотрудниками, проведены интереснейшие работы по фотосинтезу; там же его сотрудники разрабатывали некоторые важные проблемы почвенной микробиологии.

Будучи глубоким исследователем в области науки, С. П. Костычев всегда живо откликался на те запросы, которые практическая жизнь ставила перед учеными. Связь с практикой он осуществлял в области сельского хозяйства и в биохимической промышленности. В 1923 г. он был избран заведующим отделом микробиологии Государственного института опытной агрономии, который в то время мало отвечал своему назначению. С. П. Костычев наметил пути реорганизации отдела соответственно запросам сельского хозяйства и с большим уменьем и энергией превратил его в короткий срок в обширный, ныне существующий Институт сельскохозяйственной микробиологии в системе Академии сельскохозяйственных наук имени В. И. Ленина.

В последние годы своей жизни С. П. Костычев с большим увлечением занимался в Научно-исследовательском институте пищевой промышленности вопросами и заводского получения лимонной кислоты. Эти работы являются яркой иллюстрацией правильного подхода к решению производственных вопросов на основе теоретических изысканий. Большую роль в воспитании интереса к теоретическим вопросам в физиологии растений сыграли лекции С. П. Костычева в Ленинградском университете и его книги, содержащие обширный обзор литературы и изложение его собственных взглядов.

Умер С. П. Костычев 21 августа 1931 г. в полном разгаре своей творческой деятельности.

Из разнообразных работ С. П. Костычева я остановлюсь только на тех, которые связаны с жизнью микроорганизмов.

Круг научных интересов С. П. Костычева был очень широк, но он никогда не разбрасывался, а в каждый данный момент сосредоточивал все свое внимание на решении одной определенной теоретически важной проблемы. При разработке каждого вопроса он стремился охватить его целиком, изучить на ряде объектов, придавая большое значение индивидуальным отличиям отдельных организмов. Экспериментальное изучение фактов почти всегда приводило его к построению той или иной научной теории; но он не смотрел на эти теории как на нечто незыблемое; он смотрел на них как на научные, основанные на имеющихся фактах, гипотезы. Именно потому, что его теоретические представления вытекали из фактов, они всегда были прогрессивны, возбуждали мысль и помогали дальнейшему развитию науки.

Приступив к исследованию вопроса о дыхании растений, С. П. Костычев остановился прежде всего на выяснении сущности анаэробного дыхания и связи его с аэробным. Хотя в то время сущность анаэробного дыхания была еще не достаточно разъяснена, но было установлено его повсеместное распространение и тожество продуктов его с продуктами спиртового брожения. С. П. Костычев в своей первой диссертации «Исследования над анаэробным дыханием растений» поставил опыты по изучению влияния на анаэробное дыхание внешних факторов, по выяснению характера анаэробного дыхания у различных высших растений и грибов и по влиянию на ход анаэробного дыхания отдельных органических веществ, например пептона и аминокислот. Пфеффером и

Вортманом была предложена гипотеза о том, что спирт, образовавшийся в процессе анаэробного дыхания в присутствии кислорода, или сжигается в CO_2, или вновь регенерируется в сахар; таким образом, они смотрели на спирт, как на промежуточный продукт кислородного дыхания. Этой точки зрения был противопоставлен взгляд противников генетической связи анаэробного и аэробного дыхания — Годлевского и Дьяконова, который и сделался господствующим. Они несколько упрощенно трактовали процессы дыхания, рассматривая анаэробное дыхание как спиртовое брожение, которое начинается при недостатке кислорода и прекращается при доступе воздуха.

В своей экспериментальной работе С. П. Костычев подтвердил тожество продуктов анаэробного дыхания со спиртовым брожением и установил одинаковое воздействие некоторых внешних факторов на кислородное и анаэробное дыхание. Вся совокупность его экспериментальных работ привела его к твердому убеждению о связи между процессами дыхания и спиртового брожения. Согласно его теории, сахар разлагается по схеме спиртового брожения, но брожение в присутствии кислорода доходит до конца только в том случае, если организмы, например дрожжи, мукоровые грибы, обладают высоко выраженной способностью к брожению и слабой способностью к окислению. У типичных аэробов, при большом количестве окислительных ферментов, нестойкие промежуточные продукты спиртового брожения окисляются, не доходя до спирта. Целым рядом опытов он доказал, что анаэробное дыхание плесневых грибов возможно и за счет пептона, хинной и винной кислот. Он показал, что следует отличать неспособность дышать за счет определенных соединений в бескислородной среде от скорости отравления продуктами анаэробиоза.

Особо важное значение С. П. Костычев придавал опытам над стимуляцией дыхания растворами «недоброженного» дрожжами сахара, т. е. такими растворами, в которых брожение еще не дошло до конечных продуктов, спирта и CO_2. Он считал, что в таких растворах содержатся промежуточные продукты сбраживаемого сахара, такие соединения, которые обладают расшатанной молекулой, легко поддающейся дальнейшим превращениям. Эти соединения — общие промежуточные продукты брожения и дыхания — превращаются в различных направлениях; или в сторону брожения с образованием спирта, или в сторону полного окисления. Наличием в недоброженных растворах таких нестойких промежуточных продуктов и объясняется тот факт, что внесение их сильно стимулирует дыхание.

С. П. Костычев отмечает, что свои взгляды на генетическую связь между дыханием аэробным и анаэробным он считает теорией, которая вполне себя оправдала в качестве рабочей гипотезы, так как послужила толчком к экспериментальному изучению вопроса.

Вторая диссертация С. П. Костычева «Физиолого-химические исследования над дыханием растений» и некоторые позднейшие экспериментальные исследования были посвящены дальнейшему изучению физиолого-химических превращений при дыхании. Белковая теория дыхания была в то время оставлена. Трудами, главным образом русских ученых — В. И. Палладина над высшими растениями, Л. А. Иванова над дрожжами, было доказано потребление углеводов при дыхании и установлено, что белки не служат материалом для брожения. Вопросы физиологии окисления и изучение ферментативных окислительных процессов в применении к отдельным растительным организмам тогда еще были мало разработаны. После разбора всех существовавших теорий медленного окисления С. П. Костычев остановился на теории А. Н. Баха и положил ее в основу своего понимания дыхательных процессов; согласно этой теории, дыхание протекает за счет окислительных ферментов. Кислород воздуха присоединяется при воздействии

оксидаз к легкоокисляемым веществам, образуя молоксиды, обладающие более высокой окислительной способностью, чем кислород воздуха, при помощи пероксидаз происходит дальнейшее повышение окислительного потенциала молоксидов с образованием вторичных перекисей.

Ход окислительных процессов он изучал на высших растениях и плесневых грибах. Первый вопрос, на котором он остановился, был вопрос о том, какие вещества подвергаются окислению в живой клетке, происходит ли непосредственное окисление углеводов или последние участвуют в дыхании косвенным образом, путем регенерации живых белков клетки, как этого требовала теория Детмера. Своими опытами он доказал, что теория Детмера должна быть окончательно вычеркнута из учения о дыхании, так как углеводы подвергаются непосредственному окислению. Кроме нормального дыхания, он признает, при условии истощения запасных углеводов, возможность и дыхания аномального, за счет белков протоплазмы. Он считает, что в тех случаях, когда дыхание идет не за счет углеводов, а за счет запасных питательных веществ, например маннита у шампиньона или жиров у многих растительных организмов, окисление последних идет путем промежуточного образования сахаров, в частности глюкозы. В своих позднейших работах 1921 г. для доказательства промежуточного образования сахара он проводил опыты по культивированию плесневых грибов на различных органических соединениях. В том случае, если в культурах Aspergillus niger, развивавшегося за счет маннита, глицерина, винной, молочной или хинной кислот, окислительные процессы задерживаются вследствие недостатка кислорода, происходит накопление в растворе промежуточно образовавшегося сахара.

На основании опытных данных и теоретических соображений он выдвинул в отношении дыхания следующие положения.

1. Роль спиртового брожения в процессе дыхания сводится к тому, что под влиянием зимазы сахар превращается в легкоокисляемые соединения, которые в присутствии кислорода и соответственной ферментативной системы окисляются в ходе сопряженных реакций до углекислоты.

2. Несмотря на существование генетической связи между аэробным и анаэробным дыханием, спирт как таковой не играет роли в окислении сахара до углекислоты и воды; при нормальном ходе окисления он совсем не образуется, окислению подвергается не спирт, а нестойкие промежуточные продукты спиртового брожения.

3. Окислительные ферменты растений не могут производить окисления углеводов, но окисляют промежуточные продукты брожения, как им было экспериментально доказано; эти промежуточные продукты окисляются со значительным выделением углекислоты не только перекисью водорода в присутствии солей железа, но и растительной пероксидазой.

В одной из своих последних статей 1931 г. он еще раз разбирает все окислительно-восстановительные теории, включая теории Виланда, Квэстеля и Варбурга, и отмечает, что он в своих работах по дыханию исходил из теории А. Н. Баха об аутоксидации и роли в ней окислительных ферментов. В той же статье С. П. Костычев упоминает, что, с его конечной точки зрения, в живой клетке при дыхании идут ферментативные процессы активации не только кислорода, но и водорода.

С. П. Костычев всецело разделял точку зрения В. И. Палладина о том, что в живой клетке имеется полная координация отдельных ферментативных систем; эта сложная регулировка нарушается в убитых организмах. Признавая координированную работу всех ферментативных систем клетки, он не принимал одной общей схемы дыхания для всех растений, считаясь с их биологическими особенностями. Он внимательно следил за различными отклонениями, которые зависят от

своеобразия внешних условий, индивидуальных свойств организма и хода его развития. Соотношение спирта и углекислоты при анаэробном дыхании не всегда укладывается в рамки спиртового брожения. Например, им было установлено, что брожение шампиньона протекает совершенно своеобразно, отклоняясь от общего типа; в анаэробных условиях он образует углекислоту, не образуя спирта. В дальнейшем им были поставлены опыты по выяснению интенсивности дыхания Aspergillus niger в зависимости от хода его развития. Скорость роста у этого гриба необычайно высока, а интенсивность дыхания меняется по мере хода его развития; активность гриба проявляется в большой энергии его дыхания: интенсивность его дыхания на 1 г сухого веса превышает во много раз даже интенсивность дыхания прорастающих семян гороха, объекта, являющегося образцом энергичного дыхания.

Теоретические взгляды и экспериментальные данные С. П. Костычева изложены им в двух его диссертациях, книге «Физиология растений» и отдельных книгах и статьях, посвященных вопросам дыхания, на русском и иностранных языках.

Большинство взглядов и положений С. П. Костычева по вопросам дыхания растений обычно принимаются в литературе; только вопрос о промежуточном образовании сахаров при окислении в процессе дыхания безазотистых, органических соединений, не принадлежащих к углеводам, встретил возражения со стороны В. С. Буткевича.

Первый период научной деятельности С. П. Костычева, посвященный вопросам дыхания, определил и дальнейший ход развития его научной мысли. Начальные фазы преобразования сахара при дыхании таковы же, как и при брожении; промежуточные продукты этих начальных фаз являются общими для дыхания и брожения; вот основные положения, к которым он пришел. Из этих положений естественно вытекало заключение, что для полного понимания процессов дыхания необходимо изучить химизм брожения. Интересы его действительно, начиная с 1912 г., почти целиком обратились к изучению брожения и его промежуточных продуктов. Этому вопросу за период 1912—1931 гг. посвящен длинный ряд статей, выполненных совместно с учениками; особое значение имеет цикл из 20 статей под названием «О спиртовом брожении».

Свои исследования по брожению он начал в тот период, когда уже была доказана несостоятельность старых теорий брожения: Бухнера, считавшего, что промежуточным продуктом брожения является молочная кислота, и Бойсен-Иенсена, признававшего промежуточным продуктом брожения диоксиацетон.

С. П. Костычев выдвинул теорию об участии в брожении активного водорода. Идея об участии в брожении восстановительных процессов высказывалась и другими учеными, в первую очередь В. И. Палладиным, но он облек эту идею в конкретную форму, подтвердил ее опытным путем и разработал схему брожения, в которой была выяснена роль восстановительных процессов. Свою схему, которой он придерживался до конца и которая с различными вариантами является общепринятой, он формулировал следующим образом: $C_6H_{12}O_6 = 2CH_3COCOOH + 4H$. $2CH_3COCOOH = 2CH_3COH + 2CO_2$. $2CH_3CHO + 4H = 2CH_3CH_2OH$.

Никаких предположений о ходе образования пировиноградной кислоты он не делал, а вел исследования только относительно последующих этапов брожения. Восстановительные свойства дрожжей были известны ранее, но изучались они самостоятельно, без связи с процессами брожения. С. П. Костычев выдвинул положение, что редуктаза является одним из важнейших ферментов дрожжей; при ее участии молекула сахара распадается с образованием четырех атомов водорода на две молекулы пировиноградной кислоты; водород активируется редуктазой и восстанавливает ацетальдегид, образовавшийся при воздей-

ствии карбоксилазы из пировиноградной кислоты. Промежуточными продуктами брожения могут быть названы такие соединения, которые образуются в ходе брожения, а прибавленные извне сбраживаются дрожжами. Считая, что ни один из промежуточных продуктов брожения не накопляется при нормальных условиях и что для улавливания их необходимо вмешательство в ход брожения, он ввел новую методику для доказательства образования ацетальдегида — предполагаемого им промежуточного продукта. Новый прием вмешательства в ход брожения заключался в введении в бродящую жидкость солей цинка и кадмия. Этот прием основывался на том, что небольшие количества ионов цинка и кадмия (0,1—0,3 г на 10 г гефанола) угнетают деятельность восстановительных ферментов, не затрагивая других ферментов.

Вводя в среду ничтожные количества солей цинка и кадмия, он действительно констатировал образование ацетальдегида при брожении. Например, в одном опыте с 10 г гефанола было выделено на 10 г сахарозы 0,4917 г ацетальдегид-нитрофенил гидразона. В ходе работы была выяснена сущность воздействия ионов металлов; оказалось, что катионы цинка и кадмия задерживают деятельность редуктазы, переводя ее в неактивное состояние. В связи с блокированием редуктазы общий ход брожения нарушается, вместе с тем меняется и энергия всего процесса. Восстановление ацетальдегида прекращается, и значительная часть его накапливается в растворе в свободном состоянии. Нормальный ход переработки сахара нарушается, и при брожении происходит потребление бóльшего количества сахара, чем это можно было бы ожидать, судя по выходу углекислоты, спирта и ацетальдегида. Действие ионов цинка и кадмия вполне специфично, они не влияют на другие ферменты дрожжей: инвертазу и протеазу. Он вполне ясно учитывал, что присутствие солей тяжелых металлов должно рассматриваться как сильное вмешательство в ход ферментативного процесса, но считал, что без такого сильного воздействия нельзя стабилизировать промежуточных продуктов. С его точки зрения, присутствие тяжелых металлов меняло не направление цепи биохимических процессов брожения, а только скорость отдельных ее звеньев.

Накопления уксусного альдегида при брожении он достигал и другими методами: он констатировал, что в присутствии такого акцептора водорода, как метиленовая синь, не происходит восстановления ацетальдегида в спирт, а он как таковой накопляется в бродящей жидкости.

С. П. Костычев подошел к доказательству того, что уксусный альдегид является действительно промежуточным продуктом брожения и с другой точки зрения. Он первый установил, что при внесении ацетальдегида в малых количествах живые и убитые дрожжи восстанавливают его в спирт. Процесс восстановления уксусного альдегида в спирт с особой энергией идет в присутствии сахара. При этом, согласно его схеме, протекают первые ступени брожения, сопряженные с образованием пировиноградной кислоты и активного водорода, необходимого для восстановления альдегида.

Ацетальдегид образуется при брожении только в результате длинной цепи реакций и при своем восстановлении дает уже спирт, конечный продукт брожения. Обнаружить образование пировиноградной кислоты при спиртовом брожении ему не удалось. Применив новый метод введения в раствор при брожении дрожжей солянокислого семикарбазида, он констатировал только образование семикарбазона метилглиоксаля.

В ряде работ С. П. Костычева разработаны вопросы хода молочнокислого брожения. Для открытия промежуточных продуктов молочнокислого брожения он применял упомянутый выше новый метод — введения в опытный раствор малыми дозами солянокислого семикарбазида, выделения и идентификации получающихся в опыте семикарбазонов.

Первые опыты были проведены с бактерией почти чистого молочнокислого брожения Bacterium Caucasicum. Было констатировано образование семикарбазонов пировиноградной кислоты и метилглиоксаля.

В этих опытах он нашел подтверждение своего предположения, что первые ступени молочнокислого брожения идут тем же путем, как и при спиртовом брожении, с образованием пировиноградной кислоты и водорода. В дальнейшем, применяя те же новые методы, он распространил свои выводы и на другие молочнокислые бактерии Bact. Delbrückii и Bact. lactis acidi; при брожении в присутствии солянокислого семикарбазида удалось обнаружить образование пировиноградной кислоты.

С. П. Костычев построил изящную схему, согласно которой все брожения — спиртовое, молочнокислое и маслянокислое — имеют первоначально общее течение, сопряженное с расщеплением молекулы сахара до пировиноградной кислоты и водорода; только на этом этапе происходит расхождение хода отдельных брожений.

Дальнейшими опытами (1925) С. П. Костычева было, однако, доказано, что бактерии чистого молочнокислого брожения не способны при нормальном брожении сбраживать метилглиоксаль и пировиноградную кислоту. Это заставило его высказать предположение, что при нормальном брожении до образования этих соединений и не доходит, образуются только близкие к ним соединения, с ненасыщенными радикалами и неустойчивой молекулой, которые после стабилизации уже не могут снова вступать в цепь ферментативных процессов брожения. С. П. Костычев широко исследовал процессы брожения, захватывая и биохимические и чисто физиологические вопросы. Отмечу некоторые из них. Он первый показал, что дрожжи могут осуществлять реакцию Канницаро, превращая две частицы ацетальдегида в частицу спирта и уксусной кислоты по формуле: $2CH_3CHO = CH_3CH_2OH + CH_3COOH$.

Интересны работы С. П. Костычева по влиянию внешних условий, именно кислорода на ход брожения. Он не касался вопроса о влиянии аэрации на скорость спиртового брожения, по которому в его время получались столь противоречивые данные, но остановился на разрешении не менее сложного вопроса о значении кислорода для хода брожения. Его исследования 1928 г. показали, что в присутствии кислорода дрожжи способны сбраживать такие вещества, которые в его отсутствие совершенно ими не сбраживаются, именно многоатомные спирты, глицерин и маннит. В условиях полной аэрации, в токе воздуха, эти спирты превращаются дрожжами в сбраживаемые ими соединения; превращения эти происходят в результате как реакций активации водорода, так и окислительных реакций за счет кислорода воздуха.

При исследовании энергетических процессов мукоровых грибов (1921), слабых бродителей, С. П. Костычев остановился на физиологических особенностях отдельных видов. Оказалось, что морфологически не различимые + и — расы Mucor racemosus физиологически неодинаковы: сахарозу сбраживает только — раса. При изучении брожения мукоровых и влияния на их развитие аэрации он установил физиологическую характеристику их отдельных видов. Mucor racemosus, сравнительно сильный бродитель, и Rhisopus nigricans могут нормально развиваться при полном отсутствии кислорода; Mucor mucedo без кислорода не растет, но в состоянии некоторое время сохраняться в анаэробных условиях. Плесневые грибы могут переходить от дыхания к брожению, у них в связи с их отношением к кислороду можно найти переходы от настоящих бродителей к почти облигатным аэробам.

Эти факты, с точки зрения С. П. Костычева, лишний раз подчеркивали, что не существует разрыва между брожением и дыханием, что тот же организм, в зависимости от внешних условий, переходит от одного процесса к другому, связанному с ним генетически.

С. П. Костычев был большим знатоком научной литературы и посто-

янно изучал ход развития научной мысли. С редким увлечением он отзывался на все новые открытия, но никогда слепо не преклонялся перед научными авторитетами; к каждому вопросу он подходил критически. Не раз он вступал в резкую полемику с общепризнанными авторитетами. Ярким примером этого является его длительная и острая полемика с немецким биохимиком Нейбергом по поводу промежуточных продуктов брожения. Примером того же тонкого, критического отношения является выполненный им пересмотр экспериментальных данных Бухнера. После работ Бухнера в 1897 г. о зимазе учение о внеклеточном брожении вылилось в признанную всеми научными авторитетами догму, и была нужна большая смелость, чтобы выступить с открытой критикой опытов, послуживших ей основанием. Теория Бухнера приковала внимание С. П. Костычева, и в результате тщательного изучения всего экспериментального материала перед ним встал вопрос о том, не принимают ли участие во внеклеточном брожении живые клетки. Критика учения Бухнера исходила из правильных предпосылок и имела целью выяснить, насколько безупречно, с точки зрения исключения живых клеток, поставлены были опыты. В настоящее время наши знания о ферменте зимазе расширились и укрепились в связи с тем, что была выделена и биохимически изучена козимаза брожения; было установлено, что она представляет собой определенное химическое соединение, нуклеотид адениловой кислоты. Мы имеем точное представление о коэнзиме брожения, но наши знания о зимазе в целом, о комплексе ферментов, ее составляющих, еще не уточнены. С. П. Костычев поставил вопрос, конечно, не о том, существует ли зимаза как комплекс ферментов, сбраживающих сахара, а о том, доказана ли ее способность работать вне живой клетки. Еще в 1913 г. он установил, что лебедевские сухие дрожжи прорастают на желатине. Систематическое изучение брожения сока дрожжей и их сухих препаратов он начал с 1927 г. Он установил, что в зимине и в сухих лебедевских дрожжах содержится ничтожное количество живых, способных к размножению клеток. Брожение оживающих клеток значительно, в 12—15 раз усиливается, благодаря стимулирующему действию сока отмерших клеток дрожжей в препарате. Мацерационный сок дрожжей содержит лишь незначительное количество живых клеток, число которых не соответствует силе брожения сока. Характер брожения мацерационного сока, однако, не отвечает характеру чисто ферментативного процесса.

Ферментативный процесс начинается бурно и скоро кончается, тогда как в мацерационном соке идет медленное и вялое брожение, даже начинается разбраживание. Наблюдения показали, что применявшийся в опытах с брожением антисептикум, толуол, не достигает цели, так как в препарате сохраняются живые клетки. Фильтрование через бактериальные фильтры или прекращает, или сильно задерживает брожение. В 1928 г. было установлено, что недеятельный в результате фильтрования сок может быть снова переведен в деятельное состояние путем внесения ничтожных количеств деятельного сока; такое инактивирование сока фильтрованием и восстановление активности могут быть повторены последовательно много раз. Исследования С. П. Костычева доказали несовершенность постановки опытов по внеклеточному брожению. В собственных опытах ему удалось констатировать факт брожения мацерационного сока без участия живых клеток дрожжей или видимых бактерий; сок, оставаясь после фильтрования стерильным, не утрачивал в полной мере способности к брожению.

Исходя из представления о зимазе как комплексе ферментов, он ставил вопрос о том, каким путем протекает сложная координация деятельности этих ферментов вне живой клетки. Несмотря на установленный им факт слабого брожения стерильного мацерационного сока, он считал, что хотя существование внеклеточного брожения и возмож-

но, но оно еще не доказано, еще нельзя утверждать, что опытным путем удалось сбраживать сахара без участия плазмы с ее тонкой структурой.

С конца XIX столетия постепенно стали накопляться факты, свидетельствующие о существовании различных стадий развития бактерий, о возможности перехода видимых форм в невидимые. С. П. Костычев считал, что вопрос о существовании фильтрующихся форм бактерий нельзя игнорировать в ходе лабораторных опытов; чисто гипотетически, он выдвинул предположение о возможности участия фильтрующихся форм в брожении стерильного мацерационного сока.

Вокруг смелого утверждения С. П. Костычева о недоказанности внеклеточного брожения возгорелась острая дискуссия; в ходе этой дискуссии, конечно, нельзя было опровергнуть установленные им факты и необходимость более точного и строгого подхода к экспериментальному решению вопросов большой теоретической важности. Независимо от исхода дискуссии, в работах по внеклеточному брожению С. П. Костычеву удалось выяснить ряд вопросов, имеющих большое принципиальное значение. Чрезвычайно интересен, например, установленный им факт о том, что дрожжевые клетки под влиянием внешних условий среды, именно экстрактов дрожжей, обнаруживают колоссальное повышение своей бродильной способности. Такая высокая стимуляция наблюдается только в тех случаях, когда клетки находятся в небольшом количестве. Эта высоко активирующая способность бродильной среды в отношении живых клеток бросала новый свет на стимуляцию процессов брожения.

В последние годы жизни (1927—1931) центральным биохимическим вопросом, интересовавшим С. П. Костычева, был вопрос об образовании органических кислот. Он подошел к этому вопросу с теоретической точки зрения и, как всегда, внес в толкование его много нового и интересного. Выяснение механизма образования органических кислот плесневыми грибами имеет свою длинную историю. Ранее считали (Мазе и Бухнер), что лимонная кислота образуется за счет белковых соединений. В. С. Буткевич, как подчеркивает С. П. Костычев, первый установил, что образование лимонной кислоты идет не за счет белков, а за счет сахара. При этом было высказано мнение, что лимонная кислота образуется при превращениях сахара, в реакциях, сопряженных с кислородным дыханием. В своей первой работе по лимонной кислоте С. П. Костычев ставит вопрос, в какой мере образование лимонной кислоты из сахара грибами связано с дыханием последних. Под дыханием он понимал совершенно определенный ход ферментативных процессов и считал, что выяснение хода образования органических кислот требует в некоторых случаях совершенно иного подхода. Опыты с Aspergillus niger показали, что в молодых, энергично дышащих клетках лимонная кислота совсем не образуется; она образуется грибом только при совершенно специальных условиях. Лимонная кислота появляется только при высоком содержании сахара в растворе, ее образование стоит в связи с возрастом культуры и ее азотным питанием. В начале роста культуры накопления лимонной кислоты не наблюдается, старые культуры, для которых усвоение азота уже закончено, тоже не образуют лимонной кислоты. Она не накапливается во время энергичного усвоения азота грибом; накопление начинается только после того, как запасы азота в питательном растворе почти исчерпаны. В присутствии сахара лимонная кислота не потребляется грибом. Исходя из полученных опытных данных, он выдвинул новую теорию образования лимонной кислоты, согласно которой образование ее происходит не за счет аминокислот, а за счет сахара, но оно связано с белковым обменом гриба. Отсутствие образования лимонной кислоты молодыми, энергично дышащими клетками показывает, с его точки зрения, что она не представляет собой промежуточного продукта дыхания, в образовании

ее несомненно участвуют синтетические процессы. Бернгауер выдвинул гипотезу о том, что из сахара обычным для брожения путем образуется спирт, который окисляется в уксусную кислоту; в результате ряда синтетических преобразований последней и идет синтез лимонной кислоты. В. С. Буткевич показал, что некоторые грибы могут превращать спирт в уксусную кислоту, и построил схему, согласно которой эта последняя, через построение аконитовой кислоты, участвует в синтезе лимонной кислоты. Подобные схемы выдвинули и некоторые иностранные авторы; эти гипотетические схемы, однако, не объясняют связи образования лимонной кислоты с физиологией гриба, ходом его развития и азотным режимом, хотя последний и регулирует процесс этого образования.

Работы С. П. Костычева дали ясное представление о тех условиях, которые необходимы для накопления лимонной кислоты; гриб должен быть молодым, хорошо выросшим и должен быть поставлен в результате недостатка азотистого питания в такие условия, которые бы задерживали синтетические процессы построения белка. Задержку эту можно вызвать или перенесением мицелия в бедную азотом, но богатую сахаром среду, или путем насыщения мицелия гриба азотом. Результаты исследований по ходу образования лимонной кислоты грибом Aspergillus niger дали ряд ценнейших указаний для ее получения промышленным путем.

К вопросу о получении дефицитной тогда лимонной кислоты промышленным путем С. П. Костычев подошел, как ученый-экспериментатор. Все основные производственные вопросы были подробно разработаны в институтах Сельскохозяйственной микробиологии и Пищевой промышленности. В последнем институте скоро была организована специальная лаборатория, где и была проведена разработка полузаводской установки. Основное положение С. П. Костычева исходило из факта, установленного путем полного учета азота в опытах с Aspergillus niger, и говорило о том, что существует полная зависимость между усвоением грибом азота и образованием лимонной кислоты. Пока гриб воспринимает из раствора азот, образования лимонной кислоты не происходит, она начинает накопляться только в тех случаях, когда молодой, сильный мицелий перестает в присутствии сахара питаться азотом. В противоположность Бернгауэру было установлено, что при условии поддержания содержания азота в грибе ниже определенной нормы способность накоплять лимонную кислоту присуща в той или иной мере всем испробованным расам гриба. На специфичность отдельных штаммов Aspergillus niger в отношении энергии образования лимонной кислоты С. П. Костычев обратил большое внимание, и в его лаборатории происходил тщательный их подбор. В лаборатории С. П. Костычева было установлено, что под влиянием внешних условий направление биохимических процессов у гриба менялось; когда содержание азота поднимается выше определенной нормы, то происходит сдвиг биохимических процессов и, вместо лимонной, образуется глюконовая кислота.

Схема полузаводской постановки была утверждена С. П. Костычевым летом 1931 г. По этой новой схеме, Институт пищевой промышленности поставил первую в СССР полузаводскую, а затем и заводскую установку получения лимонной кислоты. Естественно, что так хорошо подготовленное на научной основе дело стало быстро развиваться.

Получение лимонной кислоты было не единственным производственным вопросом, которым занимался С. П. Костычев: им был разработан метод биохимического получения молочной кислоты, потребность в которой была очень велика, из отбросов сыроваренного производства с применением культур Bacterium Caucasicum.

С 1920 г. С. П. Костычев начинает серию исследований по выяснению хода усвоения азота плесневыми грибами и бактериями, затем переходит к работам по почвенной микробиологии. Наибольший инте-

рес в нем вызывал вопрос об усвоении свободного азота азотобактером и значении этого последнего для азотного режима почв. Работы его по азотному режиму почв стояли в тесной связи с его общими взглядами на азотное питание растений. В начале XX столетия господствовали взгляды, особенно ярко формулированные Фишером, о различии в азотном питании у отдельных групп растительных организмов. С. П. Костычев выдвинул новую точку зрения единства хода построения белковых веществ у растений, в частности, микроорганизмов: синтез белков происходит за счет аммиака и сахара, подвергнутого определенным превращениям. Он неоднократно возвращался к доказательству единообразного хода усвоения азотистых соединений. Нитраты, нитриты, молекулярный азот восстанавливаются до аммиака; белковые соединения расщепляются до аминокислот; последние, за некоторыми исключениями, дезаминируются, давая тот же аммиак, который и ассимилируется клеткой. Только в некоторых случаях воспринятые аминокислоты идут непосредственно на построение белковой молекулы. В настоящее время в связи с выяснением значения витаминов учение о питании микроорганизмов коренным образом перестроено. Сейчас точно разграничивают потребность микроорганизмов в источниках азота и в витаминах. Установлен ряд фундаментальных фактов: 1) аммонийные соли усваиваются всеми бактериями; 2) многие бактерии не довольствуются аммиачным питанием, им необходимы для развития те или иные аминокислоты, которых они сами не в состоянии синтезировать, и 3) первичный синтез аминокислот происходит за счет аммиака и двух основных органических кислот. Все эти факты, имеющие первостепенное значение, подтверждают основное положение С. П. Костычева о значении аммиака в синтезе белковых соединений. Его представления о тех отдельных случаях, при которых построение белковой молекулы идет непосредственно за счет поступающих аминокислот, в настоящее время значительно расширено и уточнено.

В связи с общей проблемой азотного обмена им были проведены опыты по усвоению азота нитратов плесневыми грибами. Этому вопросу посвящены были многочисленные исследования, но только работы Риттера внесли ясность в этот вопрос. Риттер в 1916 г. установил, что плесневые грибы ведут усвоение нитратов через восстановление их в нитриты; вопрос о дальнейших превращениях нитритов оставался открытым. Предположив, что в дальнейшем ходе усвоения нитритов происходит их восстановление до аммиака, С. П. Костычев встретился с большими экспериментальными затруднениями. В. С. Буткевич еще в 1902 г. показал, что плесневые грибы энергично дезаминируют аминокислоты с образованием аммиака. Разграничение в опытах такого вторичного аммиака от первичного, образовавшегося за счет восстановления нитритов, требовало специальной постановки опытов. В результате детального изучения азотного режима Aspergillus niger и Mucor racemosus, с внесением в питательную среду в разных количествах нитратов, нитритов, в присутствии и отсутствие сахара, удалось найти такие условия опыта, при которых дезаминирование было исключено. Были проведены кратковременные, двенадцатичасовые опыты с полным учетом баланса азота во всех его формах в мицелии и питательной среде, при смене нитратно-сахарного раствора. При таких условиях удалось уловить промежуточный продукт усвоения нитритов грибами — аммиак и образованные за его счет аминокислоты. Полученные данные заставили его сделать вывод, что в ходе усвоения нитратов плесневые грибы восстанавливают их через нитриты до аммиака, так что и нитриты и аммиак имеют первичное происхождение. Аминокислоты образуются путем синтеза из аммиака. Восстановление нитратов в нитриты идет и в отсутствие сахара, дальнейшие превращения нитратов возможны только в присутствии сахара.

До работ С. П. Костычева обширная литература по ходу усвоения свободного азота азотфиксирующими бактериями носила чисто умозрительный характер, экспериментально вопрос не был освещен. Некоторые считали вероятным окисление азота до азотной кислоты, другие — непосредственное связывание его с органическими соединениями. Виноградский в 1893 г. высказал предположение, что при анаэробном усвоении свободного азота это усвоение идет через восстановление его до аммиака.

С. П. Костычев остановился прежде всего на изучении физиологических свойств азотобактера. Он выяснил (1926), что Azotobacter agile обладает резко выраженной восстановительной способностью и в присутствии энергетического материала восстанавливает нитраты через нитриты в аммиак; после истощения питательной среды живые клетки азотобактера воспроизводят и процессы дезаминирования пептона и аминокислот. В молодых культурах Azotobacter agile, у которых процесс дезаминирования еще не имел места, при постановке опытов на кремнекислом геле удалось обнаружить от 1 до 5 мг азота аминокислот, при общей прибыли азота в 40—70 мг. Энергетический материал препятствует дезаминированию, и это дало возможность установить, что образовавшийся аммиак мог получиться только в результате осуществленного клеткой восстановления свободного азота до аммиака. Известно, что без участия живой клетки такое восстановление может итти только при колоссальной затрате энергии и высокой температуре. Такие же данные накопления аммиака в результате усвоения азота были получены и с Azotobacter Vinelandii. Экспериментальные данные об аммиаке как промежуточном продукте усвоения азота воздуха азотобактером были подтверждены Виноградским (1931—1942) и некоторыми другими исследователями. Нельзя пройти мимо новейших данных, подтверждающих это положение при помощи тонкой методики «меченых атомов». При помощи этой методики можно проследить судьбу атома в организме. Индивидуальная судьба превращений изотопа азота воздуха N^{15} была прослежена в процессе усвоения азота. Было установлено, что свободный азот превращается живой клеткой в аммиак, а затем обнаруживается главным образом в виде аспарагиновой и глютаминовой кислот. Эти данные подтверждают схему С. П. Костычева о ходе усвоения свободного азота воздуха азотобактером. Свободный азот → → аммиак → аминокислоты. Как и всегда, в отношении сложных биохимических вопросов единообразие во взглядах не наступает быстро; некоторые ученые, например М. В. Федоров, придерживаются в настоящее время других взглядов на ход усвоения свободного азота.

В 1926 г., основываясь на опытах (Трюффо и Бессонов), о накоплении азота азотобактером при использовании в качестве энергетического материала корневых выделений, С. П. Костычев поставил в Институте сельскохозяйственной микробиологии на разработку вопрос о значении азотобактера для азотного баланса почв, в первую очередь почв с многолетними, бессменными культурами табака и кукурузы. Широко был подвергнут исследованию вопрос о влиянии на усвоение азота азотобактером различных культур в связи с корневыми выделениями последних. Вопрос этот нельзя и до сих пор признать окончательно выясненным, так как в опытах были достигнуты лишь невысокие повышения урожая в 5—10%. Насколько интересным и важным, однако, является этот выдвинутый у нас С. П. Костычевым вопрос, особенно в отношении монокультур, свидетельствует обилие научных и опытных работ в этом направлении, появившихся вслед за его исследованиями.

С 1926 по 1929 г. в Институте сельскохозяйственной микробиологии была, по инициативе С. П. Костычева, поставлена серия работ по исследованию биодинамики почв СССР. Впервые в СССР было начато систематическое изучение микробиологических особенностей основных

типов почв, начиная от почв Туркестана и кончая почвами Крайнего Севера. Эти работы шли, с одной стороны, в направлении изучения роли микроорганизмов в обогащении почвы азотом, с другой,— в направлении выяснения биодинамики различного типа почв в связи со значением микробиологических процессов в деле поднятия плодородия почв. Кроме вопросов, связанных с накоплением азота в почве, в этих работах было уделено большое внимание и вопросам дальнейших превращений азота и роли в них микроорганизмов. Одним из основных факторов плодородия почв С. П. Костычев признавал быстроту мобилизации их азотного фонда, регулируемую характером азотного фонда почвы, ее особенностями и составом микрофлоры. Работы по изучению почвенной микробиологии, начатые с обычным для С. П. Костычева увлечением, встретили живой отклик среди советских ученых; они вызвали в советской науке разработку многих вопросов микробиологии почвы, проведенную в разнообразных и плодотворных направлениях. С этой точки зрения, работы С. П. Костычева по почвенной микробиологии имеют большое историческое значение.

В заключение необходимо остановиться на одной характерной черте научной и литературной деятельности С. П. Костычева. Он всегда с особым вниманием относился к вопросу о приоритете русской науки. В какой бы из его книг или статей мы ни открыли обзор литературы, мы всегда найдем в ней выдвижение и защиту значения и приоритета русских ученых. Это отношение обусловливалось целиком его собственными взглядами. Наряду с более или менее признанными фактами он часто подчеркивает и такие, которые мало или совсем неизвестны. В своей докторской диссертации он пишет о том, что в то время, когда белковая теория дыхания, отрицавшая прямое окисление углеводов, пользовалась всеобщим доверием, зависимость дыхания растений от углеводов впервые (1876) отметил талантливый русский ботаник Бородин. Бородин пишет: «Энергия дыхания находится в такой тесной зависимости от количества безазотистого пластического матерьяла, что самый простой и естественный ответ будет, потому что пластический матерьял представляет в то же время и дыхательный матерьял». Укажу еще на слова С. П. Костычева в книге о брожениях по поводу открытия энзима Бухнером: «Открытие Бухнера сделано за много лет нашей соотечественницей Манассеиной. Она также растирала дрожжи с песком для получения фермента и упустила только отжимание полученной массы. Растертые дрожжи вызывали спиртовое брожение». Вопрос о приоритете не был для С. П. Костычева вопросом личного интереса отдельных ученых, а был вопросом признания заслуг отечественной науки. Поэтому ему не раз приходилось отстаивать и свой собственный приоритет перед немецкими учеными.

В этом очерке я касалась только работ С. П. Костычева, связанных с жизнедеятельностью микроорганизмов, не останавливаясь на его работах по высшим растениям, в которых он затрагивал разнообразные вопросы и которые тоже являются ценнейшим вкладом в науку. Вопросы строения стебля двудольных, ассимиляции углекислоты, питания полупаразитов нашли в этих работах яркое и своеобразное освещение.

Получено 17. IV. 1950 г.

СПИСОК НЕКОТОРЫХ ПЕЧАТНЫХ ТРУДОВ АКАДЕМИКА С. П. КОСТЫЧЕВА

1. Костычев С. П. Об интрамолекулярном дыхании у Penicillium glaucum. Общ. естествоиспыт., 30, 1, 1899.
2. Костычев С. П. Значение питательных веществ при анаэробном дыхании плесневых грибов. Журн. опытн. агрономии, 2, 308, 1901.
3. Костычев С. (Kostytschew S.) Untersuchungen über d. Atmung und alkoholische Gärung d. Mucoraceae. Ctbl. Bakt. II, 13, 490, 1904; 13, 577, 1904.

4. Костычев С. П. (Kostytschew S.) Über Atmungsenzyme der Schimmelpilze. Ber. Bot. Ges., **22**, 207, 1904.
5. Костычев С. П. Исследование над анаэробным дыханием растений, СПб., 1907.
6. Костычев С. (Kostytschew S.) Über die Alkoholgärung von Aspergillus niger. Ber Bot. Ges., **25**, 44, 1907.
7. Костычев С. (Kostytschew S.) Zur Frage d. Wasserstoffbildung bei d. Atmung der Pilze. Ber. Bot. Ges., **25**, 178, 1907.
8. Костычев С. П. Физиологические исследования над дыханием растений, 1910.
9. Костычев С. (Kostytschew S.) Ein eigenthümlicher Typus der Pflanzenatmung. Z. physiol. Chem., **65**, 350, 1910.
10. Костычев С. (Kostytschew S.) Über den Vorgang d. Zuckeroxydation bei der Pflanzenatmung. Z. physiol. Chem., **67**, 116, 1910.
11. Костычев С. (Kostytschew S.) Bildung von Acetaldehyd bei der alkoholischen Zuckergärung. Ber. Chem. Ges., **45**, 1289, 1912.
12. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Alkoholgärung. I. Über die Bildung von Acetaldehyd bei der alkoholischen Zuckergärung. Z. physiol. Chemie, **79**, 130, 1912.
13. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Alkoholgärung. II. Über die Bildung von Acetaldehyd bei der alkoholischen Zuckergärung. Z. physiol. Chemie, **79**, 130, 1912.
14. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Alkoholgärung. III. Die Bedingungen der Bildung von Acetaldehyd bei der Gärung von Dauerhefe. Ibid., **83**, 93, 1913.
15. Костычев С. и Шелоумова А. Über Alkoholgärung. IV. Über Zuckerspaltung durch Dauerhefe in Gegenwart von Zinkchlorid. Ibid., **85**, 493, 1913.
16. Костычев С. и Бриллиант В. (Kostytschew S. u. Brilliant W.) Über Alkoholgärung. V. Über Eiweissspaltung durch Dauerhefe in Gegenwart von Zinkchlorid. Ibid., **85**, 507, 1913.
17. Костычев С. и Гюбенет Е. (Kostytschew S. u. Hübbenet E.) Zur Frage der Reduktion von Acetaldehyd durch Hefesaft. Ibid., **85**, 408, 1913.
18. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Mechanismus der alkoholischen Gärung. Ber. Chem. Ges., **46**, 339, 1913.
19. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Alkoholgärung. VI. Das Wesen der Reduktion von Acetaldehyd durch lebende Hefe. Z. physiol. Chem., **89**, 367, 1914.
20. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Alkoholgärung. VII. Die Verarbeitung von Acetaldehyd durch Hefe bei verschiedenen Verhältnissen. Ibid., **92**, 402, 1914.
21. Костычев С. и Бриллиант В. (Kostytschew S. u. Brilliant W.) Die Synthese stickstoffhaltiger Stoffe im Macerationssaft. Ibid., **91**, 372, 1914.
22. Костычев С. (Kostytschew S.) Zur Frage der Bildung von Acetaldehyd bei der alkoholischen Gärung. Biochem. Z., **64**, 237, 1914.
23. Костычев С. П. Об интрамолекулярном дыхании у Penicillium glaucum. Тр. СПб. естествоисп., **30**, 1, 1914.
24. Костычев С. П. О брожениях. 1914.
25. Костычев С. П. и Фрей Л. Д. О спиртовом брожении. VIII. Влияние хлористого цинка на спиртовое брожение живых и убитых дрожжей. Журнал Русск. Бот. об-ва, **1**, 1916.
26. Костычев С. П. и Зубкова С. Е. О спиртовом брожении. IX. О действии солей цинка и кадмия на ферменты дрожжей. Там же, **1**, 47, 1916.
27. Костычев С. П. и Зубкова С. Е. Действие солей цинка и кадмия на ферменты дрожжей. Там же, **1**, 192, 1916.
28. Костычев С. П. и Бриллиант В. А. Синтез азотистых веществ после автолиза дрожжей. Изв. АН СССР, стр. 953, 1916, и Журнал Русск. бот. об-ва, **5**, 71, 1920.
29. Костычев С. П. и Афанасьева М. В. Превращение питательных веществ у плесневых грибов в отсутствие кислорода. Журнал Русск. бот. об-ва, **2**, 77, 1917.
30. Костычев С. П. и Зубкова С. Е. О спиртовом брожении. X. Там же, **3**, 40, 1918.
31. Костычев С. П. и Элиазберг П. С. О спиртовом брожении. XI. Брожение есть жизнь без кислорода, Там же, **4**, 25, 1919.
32. Костычев С. и Цветкова Е. (Kostytschew S. u. Tswetkowa E.) Über die Verarbeitung der Nitrate in organische Stickstoffbindungen durch Schimmelpilze. Z. physiol. Chem., **111**, 171, 1920.
33. Костычев С. П. и Афанасьева М. В. Переработка сахара аэробными плесневыми грибами в отсутствие кислорода. Журнал Русск. бот. об-ва, **6**, 11, 1921.
34. Костычев С. П. и Цветкова Е. С. К вопросу об усвоении молекулярного азота плесневыми грибами, **6**, 19, 1921.
35. Костычев С. П. О брожении. 1921.
36. Костычев С. П. и Цветкова Е. С. Переработка нитратов и нитритов плесневыми грибами. Журнал Русск. бот. об-ва, **7**, 1, 1922.
37. Костычев С. П. Физиология растений, ч. 1, 1927.
38. Костычев С. (Kostytschew S.) Pflanzenatmung, 1924.
39. Костычев С. (Kostytschew S.) Über Alkoholgärung. XI. Über die bei der Hefegärung in Gegenwart von Calciumcarbonat entstehenden Säuren. Z. physiol. Chem., **146**, 1925.

40. Костычев С. и Рыскальчук А. (Kostytschew u. Ryskaltchuk A.) Les produits de l'assimilation de l'azote moléculaire par Azotobacter agile. C. R. Acad. Paris, 180, 1925.
41. Костычев С. и Афанасьева М. (Kostytschew S. et Afanassiewa M.) Sur la respiration des microbes de la fermentation lactique. Ibid., 181, 61, 1925.
42. Костычев С. П., Рыскальчук А. Т. и Швецова О. И. О первых продуктах связывания атмосферного азота азотобактером. Тр. Отд. с.-х. микроб., 1, 91, 1927.
43. Костычев С. и Швецова О. (Kostytschew S. u. Schwezowa O.) Weitere Untersuchungen über die Nitratreduktion durch Azotobacter. Planta, 2, 527, 1926.
44. Костычев С. П., Шелоумова А. М. и Шульгина О. Г. Новейшие исследования по биодинамике почв. Тр. Отд. с.-х. микробиологии, 2, 113, 1927.
45. Костычев С. П. и Швецова О. И. Азотистая кислота как продукт восстановления нитратов азотобактером. Там же, 2, 113, 1927.
46. Костычев С. П. и Шульгина О. Г. Микробиологическая характеристика почвы опытного поля Краснодарского института. Там же, 2, 3, 1927.
47. Костычев С. П. Весовое содержание микроорганизмов в почве. Там же, 2, 109, 1927.
48. Костычев С. П., Медведев Ю. В. и Кордо-Сысоева Е. К. Отсутствие внеклеточного брожения в сухих дрожжах. ДАН СССР А, 267, 1927.
49. Костычев С. П. и Чесноков В. А. Образование лимонной кислоты грибом Aspergillus niger. Там же, стр. 195, 1927.
50. Костычев С. и Фаерман В. (Kostytsew et Faerman W.) Le dédoublement des alcohols polyatomiques par la levûre. Там же, стр. 387, 1927.
51. Костычев С. П. и Солдатенков С. В. Метил-глиоксаль как промежуточный продукт молочнокислого брожения. Там же, стр. 245, 1927.
52. Костычев С. П. и Солдатенков С. В. Пировиноградная кислота и метилглиоксаль как промежуточные продукты молочнокислого брожения. Там же, 236, 1927.
53. Костычев С. (Kostytschew S.) Plant respirations. 1927.
54. Костычев С. и Чесноков В. (Kostytschew C. u. Tschesnokow V.) Bildung von Zitronensäure und Oxalsäure durch Aspergillus niger. Planta, 4, 181, 1927.
55. Костычев С. и Фаерман (Kostytschew S. u. Faerman) Das Wesen der Zymingärung. Z. physiol. Chem., 176, 46, 1928.
56. Костычев С. и Фаерман (Kostytschew S. u. Faerman) Über Alkoholgärung. XIV. Die Verarbeitung der mehrwertigen Alkohole durch Hefe. Ibid., 173, 72, 1928.
57. Костычев С. и Хомич А. (Kostytschew S. u. Chomitsch A.) Über Alkoholgärung. XV. Die Gärung des Hefemacerationssaftes, Ibid., 176, 55, 1928.
58. Костычев С. и Егорова. (Kostytschew S. u. Jegorowa) Über Alkoholgärung. XVIII. Das Verhalten von Hefe gegenüber Glycerinaldehyd und Glycerinsäure. Ibid., 181, 264, 1929.
59. Костычев С. и Шульгина О. (Kostytschew S. u. Schulgina O.) Über Alkoholgärung. XIX. Über einige gärungsfähige Mikroben im Hefemacerationssaft. Ibid., 182, 50, 1929.
60. Костычев С. и Егорова. (Kostytschew S. u. Jegorowa) Le prétendu rôle de l'aldehyde et de l'acide glycérique dans la fermentation alcoholique. ДАН, 157, 1929.
61. Костычев С. и Шульгина О. (Kostytschew S. et Schulgina O.) Les microbes producteurs d'alcohol dans les jus de maceration des levûres. Ibid., 161, 1929.
62. Костычев С. П. Новые течения в микробиологии и учении о брожениях. Успехи биол., химии, вып. 8, 1, 1930.
63. Костычев С. П. и Холкин И. С. Биодинамика бухарских селитряных залежей. Тр. Ин-та с.-х. микробиол., 4, 1929.
64. Костычев С. и Клупт. (Kostytschew S. u. Klupt) Fermentwirkungen im filtrierten und dialisierten Macerationssaft. Z. physiol. Chem., 189, 11, 1930.
65. Костычев С. и Берг В. (Kostytschew S. u. Berg V.) L'action des poisons sur la levûre vivante, la levûre sèche et le jus de macération. Изв. АН СССР, стр. 631, 1930.
66. Костычев С. П. Образование пировиноградной кислоты при молочнокислом брожении. ДАН СССР, 553, 1930.
67. Костычев С. и Берг В. (Kostytschew S. u. Berg V.) Über Alkoholgärung. XX. Die Einwirkung von Giftstoffen auf lebende Hefe, Trockenhefe und Macerationssaft. Z. physiol. Chem., 188, 133, 1930.
68. Костычев С. (Kostytschew S.) Atmung der Pflanzen. Handwörterbuch der Naturwissenschaften, 1, 537, 1931.
69. Костычев С. П. и Шелоумова А. М. Связывание атмосферного азота и образование аммиака азотобактером. Изв. АН СССР, серия биолог. стр. 661, 1931.
70. Костычев С. П. Получение лимонной кислоты биохимическим путем. Тр. Центр. биохим. ин-та пищевой промышл., 2, 70, 1932.
71. Костычев С. П. и Афанасьева М. В. Получение молочной кислоты из молочной сыворотки. Там же, 100, 1932.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Gleen H. **Some aspects of sulfur metabolism in soils (Некоторые стороны круговорота серы в почвах).** J. Gen. Microb., v. 3, No. 1, 1950.

Автор изучал биологическое разрушение соединений серы в почвах, которые обогащались бактериями, окисляющими определенные соединения серы. Обогащение достигалось путем добавления в почвы растворов соединений серы. Изучение окисления этими почвами соответствующих веществ велось при помощи варбурговской методики путем учета потребления кислорода почвой.

Опыты показали, что окисление тиосульфата идет по уравнению

$$Na_2S_2O_3 + 4O + H_2O = 2NaHSO_4$$

Эти почвы окисляют, кроме тиосульфата, также, тетра- и тритионат. Дитионат и сера не окисляются.

При добавлении в почвы тиоцианата (NaCNS) она обогащается микрофлорой, разрушающей это вещество. Окисление идет по уравнению

$$2NaCNS + 4O_2 + 4H_2O = Na_2SO_4 + (NH_4)_2SO_4 + 2CO_2$$

Тиосульфат и тетратионат окисляются этой почвой.

Автор считает, что ферментная система, разрушающая тиосульфат, аналогична ферментной системе, разрушающей тиоцианат. Тиосульфатокисляющие организмы не способны окислять тиоцианат ввиду его токсичности для этих бактерий.

Ю. Сорокин

Meikljohn J. **The isolation of Nitrosomonas europea in pure culture. (Выделение чистой культуры Nitrosomonas europea).** J. Gen. Microb., v. 4, No. 2, pp. 185—195, 1950.

Выделение чистой культуры нитрификаторов представляет большие трудности. Впервые удалось получить чистую культуру этих бактерий С. Н. Виноградскому (1890). В дальнейшем Kingma-Boltjes (1935) выделила чистую культуру нитрифицирующих микроорганизмов из одной клетки с помощью микроманипулятора. Автор настоящей работы описывает более простой метод выделения Nitrosomonas europea. Вначале он получал накопительную культуру на среде (А) следующего состава: $(NH_4)_2SO_4$ — 0,1 г; K_2HPO_4 — 0,1 г; NaCl — 0,2 г; $MgSO_4$ — 0,05 г, $FeCl_3$ — следы; $CaCO_3$ — 1,0 г; водопроводная вода до 100 мл (стерилизация в автоклаве 15 мин. при давлении в 2,5 атм). В коническую колбу емкостью в 250 мл наливалось 20 мл этой среды и вносилось 4 г почвы. Колбы помещались в термостат при 25°. О развитии нитрифицирующих бактерий судили по образованию нитрита. Для получения большего количества бактерий к культуре в течение 5 месяцев 4 раза добавляли раствор $(NH_4)_2SO_4$, всего в количестве 0,2 г и для поддержания щелочной реакции среды было добавлено 0,1 г $CaCO_3$. При повторных пересевах на этой среде терялась нитрифицирующая способность, поэтому для получения обогащенной культуры применялась среда (В) следующего состава: NaCl — 0,3 г; $MgSO_4$ — 0,14 г; $FeSO_4$ — 0,03 г; $(NH_4)_2SO_4$ — 0,66 г; KH_2PO_4 — 10 мл 0,1 молярного раствора, разведенного в 90 мл дестиллированной воды; А — Z — следы смеси элементов 1 мл; общий объем среды 101 мл; смесь элементов А — Z имеет состав: $LiSO_4$ — 0,01 г; $CuSO_4$ — 0,02 г; $ZnSO_4$ — 0,02 г; H_3PO_4 — 0,22 г; $Al_2(SO_4)_3$ — 0,02 г; $SnCl_2$ — 0,01 г; $MnCl_2$ — 0,14 г; $NiCl_2$ — 0,02 г; $CoSO_4$ — 0,02 г; $TiCl_4$ — 13 мл 15%-ного раствора; KJ — 0,01 г; KBr — 0,01 г; дестиллированной воды — до 360 мл.

Среда В готовилась впрок, для употребления она разводилась 10 раз. 20 мл этой среды и 0,2 г $CaCO_3$ помещались в коническую колбу на 250 мл и стерилизовались в автоклаве. В течение двух лет 24 пересева на этой среде не дали снижения нитрифицирующей способности. В последней генерации бактерии образовывали 100 мг/л нитритного азота в течение 7 дней. Культура 25-го пересева поддерживалась 4 месяца с периодическими добавлениями $(NH_4)_2SO_4$ и $CaCO_3$. По истечении этого времени под микроскопом можно было видеть бактерий, прилипших к частицам мела. Для растворения мела в целях отделения от него бактерий 1 мл пробы разводился в 10 раз 0,75%-ным раствором NaCl, и затем в течение 30 мин. пропускался предварительно

промытый дестиллированной водой ток углекислого газа. После отстаивания культуры 1 мл пробы пересевался на кремневый гель. Автор дает точный рецепт изготовления последнего. 10 мл концентрированного раствора кремневокислого натрия смешивались при слабом нагревании с 20 мл дестиллированной воды, после чего объем доводился до 100 мл. Охлажденный раствор силиката вливался в 100 мл 20%-ной соляной кислоты. После тщательного перемешивания смесь помещалась в целлофановый мешок, который опускался в цилиндр с дестиллированной водой. В течение трех дней вода в цилиндре менялась 6—7 раз, после чего не давала реакции на ион-хлор с раствором $AgNO_3$. Во время диализа объем кремневого золя достигал 250 мл. Стерильные чашки Петри заливались в следующем порядке: 1) 1 мл инокулята, обработанного углекислым газом; 2) 1 мл стерильного раствора, приготовленного на водопроводной воде и состоящего из NaCl — 2%; $MgSO_4$ — 0,5%; Na_2HPO_4 — 12%; KH_2PO_4 — 4%; $FeSO_4$ — 0,01%; $MnSO_4$ — 0,01%; $NaHCO_3$ — 1%; 3) 1 мл стерильного 5%-ного $(NH_4)_2SO_4$; 4) 10 мл отфильтрованного через бактериальный фильтр кремневого золя. Содержимое чашки тщательно перемешивалось, и через 10 мин. отстаивания при комнатной температуре получались пластинки прозрачного геля. Через 2 недели инкубации при 25° пластинки геля были покрыты крошечными колониями диаметром 100 μ. При малом увеличении микроскопа отдельные колонии отмечались тушью и затем извлекались нагретой пастеровской пипеткой для пересева на среду В (5 мл среды в 50 миллилитровой колбе). Через 14—21 день проводилась проверка чистоты бактерий высевом на питательный агар, на котором две культуры из четырех не дали роста в течение трех недель. Эти пробы в разведении 1/100 на пластинках силикагеля дали колонии диаметром 20 μ, а в разведении 1/10 000 дали меньшее количество лучше развитых колоний. На среде В культура из этих колоний в течение шести дней образовывала 100 мг/л нитритного азота без дальнейшего окисления в нитрат.

Образование нитрита из аммония и морфологические признаки, за исключением подвижности, а также отсутствие роста на питательном агаре соответствуют описанию чистой культуры Nitrosomonas europea, данному Виноградским (1892) и Kingma-Boltjes (1935).

Т. Казанская

Colmer A. R., Temple R. L. and Hinkel M. E. **An iron oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines. («Железоокисляющая бактерия из кислых дренажных вод некоторых битуминозных угольных рудников»).** J. Bact., v. 50, N. 3, pp. 317—329, 1950.

Кислые воды угольных рудников, считающиеся промышленными отбросами вследствие высокой концентрации сульфатов и железа, при стоянии быстро буреют, и весь дренаж вскоре покрывается осадком гидрата окиси железа. Предполагают, что процесс идет следующим образом:

$$2FeS_2 + 7O_2 + 2H_2O \rightarrow 2FeSO_4 + 2H_2SO_4$$

$$4FeSO_4 + 2H_2SO_4 + O_2 \rightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O$$

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6H_2O \rightarrow 2Fe(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

Из рудничных вод с pH = 2,3—2,6 были выделены бактерии, одна из которых окисляла закисное железо в окисное. Для накопления и выделения культуры применялись естественные рудничные воды, синтетически приготовленные рудничные воды того же химического состава и pH, а также среда, не содержащая железа (0,5% $Na_2S_2O_3$, 0,3% KH_2PO_4, 0,02% $(NH_4)_2SO_4$, 0,01% $MgSO_4$, 0,02% $CaCl_2$. Накопленная в жидкой среде культура высевалась на твердые среды, с которых была выделена чистая культура железоокисляющих бактерий, представляющих собой короткие подвижные неспорообразующие грамотрицательные палочки. В чистой культуре бактерии окисляли $FeSO_4$ до $Fe_2(SO_4)_3$ несколько медленнее, чем в смешанной. Они хорошо развивались на среде с $Na_2S_2O_3$, окисляя его до H_2SO_4. Подробное исследование физиологических свойств указанных бактерий показало, что они не совпадают ни с одним из описанных ранее видов железоокисляющих форм. Если отвлечься от способности бактерии развиваться на среде с железом и окислять его, то их можно отнести к роду Thiobacillus, а по устойчивости к кислоте и образованию сульфатов они сближаются с T. thiooxidans. Однако ни одна из известных тионовых бактерий не в состоянии окислять железо, и это свойство является существенным отличием выделенных бактерий от нормальных Thiobacillus.

Л. Осницкая

Campbell I., Norris F., **The intermediate metabolism of Pseudomonas aeruginosa. IV. The absence of an Embden-Meyerhof system as evidenced by Phosphorus distribution. (Промежуточный метаболизм.** Ps. aeruginosa) Canad. J. Res. «C» v. 28, N 2, pp. 203—212, 1950.

Авторы пытались разрешить вопрос об участии основных метаболитов гликолиза (гексозо- и триозофосфорных эфиров), как промежуточных продуктов в окислении глю-

козы аэробным организмом Pseudomonas aeruginosa. Эти соединения, как известно, легко обнаруживаются у многих бактерий. Постановка опытов была следующей: бактериальная масса, которая получалась центрифугированием 24-часовых культур Ps. aeruginosa, была подвергнута трехкратной экстракции трихлоруксусной кислотой. Из полученного экстракта осаждался PO_4''' в виде аммонийно-Mg-соли. Осадок отфильтровывался. Органический фосфат осаждался из фильтрата в виде различных фракций Ba-солей. При этом были получены четыре фракции: две фракции, растворимые в воде, фракция, растворимая в спирте, и фракция, растворимая в воде и спирте. Анализ распределения фосфора между фракциями показал, что 50% фосфора находится во фракции, не растворимой в воде, тогда как у бактерий, накапливающих метаболиты гликолиза, 70% фосфора находится во фракции, не растворимой в спирте. Был проведен кислотный гидролиз этих фракций. При этом оказалось, что 60—80% органического фосфора всех фракций устойчиво к двухчасовому гидролизу. Освобождение при гидролизе 20—40% фосфора не сопровождалось появлением редуцирующих веществ и фруктозы. Такой же результат дал анализ Ba-фракции, полученный по методу Дюбо из культуральной жидкости Pseudomonas aeruginosa. Последняя выращивалась на среде с глюкозой в присутствии NaF.

Авторы считают, что результаты этих опытов подтверждают ранее полученные данные об отсутствии гликолиза у Pseudomonas aeruginosa и доказывают возможность окисления глюкозы этим организмом через глюконовую и 2-кетоглюконовую кислоты без предварительного фосфорилирования этих соединений. Фиксация энергии происходит при этом за счет фосфорилирования какого-либо другого соединения, аналогично, например, фосфорилированию при окислении восстановительной козимазы. Сам механизм окисления они представляют себе как ступенчатое дегидрирование нефосфорилированной молекулы глюкозы.

Ю. Сорокин

Ingram M. **Osmophilic yeast from concentrated orange juice (Осмофильные дрожжи из концентрированного апельсинового сока).** J. Gen. Microb., v. 3, No. 1, 1950.

Автор выделил из бродящего концентрированного апельсинового сока штаммы осмофильных ацидофильных дрожжей — возбудителей брожения. Сок содержал 70% сахара и имел pH-3. Эти дрожжи сбраживали маннозу, левулозу, декстрозу; сахароза, концентрация которой в соке весьма значительна, не сбраживалась.

Дрожжи выделялись на элективной среде следующего состава: 50% декстрозы, 1% лимонной кислоты, 1% пептона. Из всех выделенных штаммов лишь немногие оказались облигатными осмофилами. Эти дрожжи напоминают виды Zygosaccharomyces, вызывающие брожение меда.

Ю. Сорокин

Cutts N. S., Rainbow C. **Studies of a yeast exacting towards *p*-Aminobenzoic acid. (Изучение потребности дрожжей в *p*-аминобензойной кислоте).** J. Gen. Microb., v. 4, No. 2, pp. 150—155, 1950.

p-Аминобензойная кислота в средах для культивирования E. coli может быть заменена определенным набором пуриновых оснований и аминокислот. В реферируемой работе была сделана попытка показать наличие аналогичного эффекта у одного из штаммов пивных дрожжей верхнего брожения, который нуждается в *p*-аминобензойной кислоте. Этот вопрос изучался в связи с возможностью использования указанного штамма для анализа данного витамина с помощью микроорганизмов. Эффект замещения *p*-аминобензойной кислоты определенными веществами обнаруживался с помощью ауксанографической методики по Бейеринку. С этой целью поверхность твердой среды, содержащей все необходимые для роста дрожжей вещества, кроме *p*-аминобензойной кислоты, густо засевалась суспензией дрожжей. На эту поверхность наносились точечные капельки испытуемых веществ. Появление зон роста служило показателем положительного эффекта. Количественное изучение велось методом, аналогичным методу анализа аминокислот, с помощью микроорганизмов.

Опыты показали, что *p*-аминобензойная кислота в средах, применяемых для выращивания данного штамма дрожжей, может быть заменена комбинацией: аденин-гистидин-метионин. Аминокислоты лизин, изолейцин, норлейцин, валин, норвалин, тирозин и фенилаланин стимулировали рост дрожжей в средах без *p*-аминобензойной кислоты, но при обязательном присутствии вышеупомянутых трех веществ.

Аденин и метионин значительно (до 30%) снижали потребность дрожжей в *p*-аминобензойной кислоте. Гистидин обладал этим свойством в меньшей степени. Результаты этих опытов подтверждают, по мнению автора, данные, полученные на бактериях, и служат доказательством участия *p*-аминобензойной кислоты в синтезе пуринов и метионина. Поведение гистидина в этих опытах он объясняет на основе данных об участии в синтезе этого вещества фолиевой кислоты, в состав которой входит *p*-аминобензойная кислота.

Ю. Сорокин

Tomlinson N., Campbell J. and Trussell P. **The influence of zinc, iron, copper and manganese on the production of citric acid by Aspergillus niger (Влияние цинка, железа, меди и марганца на образование лимонной кислоты у Aspergillus niger).** J. Bact., v. 59, No. 2, pp. 217—225, 1950.

Задача работы заключалась в выяснении необходимости присутствия в питательной среде Zn, Fe, Cu и Mn для максимального образования лимонной кислоты в культуре Aspergillus niger (раса 72—4). Среда применялась следующего состава: дестиллированной воды 1 л, сахарозы 15 г., $NaNO_3$ — 0,6 г, K_2HPO_4 — 0,06 г, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,03 г, *N* HCl — 1,7 мл.

Вода перегонялась дважды в стеклянной посуде (пирекс), pH среды после стерилизации равнялся 2,0. Для получения твердого субстрата к вышеописанной среде добавлялся агар (1,5%) с пониженным количеством HCl (до 0,1 мл). Посев производился конидиями. На 100 мл среды вносилась густая суспензия в количестве 1 мл (1 мл содержал около 5 млн. конидий). Суспензия приготовлялась с основной культуры, хранившейся в почве. Для получения конидий культура дважды пересевалась на косой агар и выдерживалась в термостате 4 дня. Суспензия для посева приготовлялась с культуры, перевитой на агар второй раз.

Ферментация велась при поверхностном росте (в эрленмейеровских колбах на 250 мл со 100 мл питательной среды) при 30° в течение 10 дней. После этого мицелий отфильтровывался, фильтрат стерилизовался в автоклаве и разбавлялся до 250 мл. Мицелий высушивался до постоянного веса (при 80° 24 часа). Лимонная кислота определялась весовым методом в виде пентабромацетата. Щавелевая кислота определялась обычным методом.

В опытах по выяснению влияния Cu, Zn, Fe и Mn на образование лимонной кислоты были взяты следующие соединения: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; $FeCl_3 \cdot 6H_3O$; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, в количество 0,1 — 0,05 мг%.

Добавление Zn и Fe к основной среде имеет большое значение для образования лимонной кислоты. При отсутствии в среде Cu и Mn концентрация Zn в основной среде должна равняться 0,1 мг%, а железо 0,01 мг%. Опыты, проведенные на основной среде при постоянной концентрации Fe и Zn, но с различными концентрациями Cu и Mn от 0,01 до 5 мг%, показали, что присутствие очень небольших количеств Mn и Cu в отдельности и вместе благоприятно сказывается на образовании лимонной кислоты. Излишние количества Cu, Zn, Fe и Mn препятствуют накоплению лимонной кислоты в основной среде. Для накопления лимонной кислоты Fe, Cu и Mn требуется меньше, чем для получения хорошего роста. Так лучший рост Asp. niger наблюдается при 0,1 мг% Fe, а лучшее накопление лимонной кислоты при 0,01 мг%. Уменьшение количества Cu и Mn в основной среде приводит к меньшему росту, но способствует большему накоплению лимонной кислоты. Имеющиеся в литературе противоречивые данные по действию Zn, Fe, Cu и Mn на образование лимонной кислоты авторы объясняют присутствием этих элементов в качестве примеси в основной среде в достаточных для организма количествах.

В. Успенская

Martin S. M., Wilson P. W. and Burris R. H. **Citric acid formation from $C^{14}O_2$ by Aspergillus niger (Образование лимонной кислоты Aspergillus niger).** Arch. of Biochem., v. 26, No. 1, pp. 103—112, 1950.

Химизм образования лимонной кислоты Asp. niger до сих пор еще не выяснен, хотя и имеется по этому вопросу целый ряд гипотез. Весьма существенным моментом было установление способности Asp. niger усваивать углекислоту из воздуха и участия последней в построении молекулы лимонной кислоты, что было доказано с помощью меченых углеродов C^{11} и C^{13}.

Настоящая работа является углублением исследования фиксации Asp. niger с целью разъяснения химизма образования лимонной кислоты. Работа проводилась с Asp. niger «72—4», хорошо образующим лимонную кислоту в погруженной культуре. Выращенный в течение 6 дней на среде Shu и Johnson Asp. niger отмывался от следов среды и переносился на бродильную среду без азота. Манометрические определения проводились в усовершенствованном макроприборе Варбурга. Меченая углекислота получалась в результате воздействия 1 *N* HCl на $BaC^{14}O_3$. По окончании опыта через 4 часа определялось количество лимонной кислоты, общее число карбоксильных групп и число первичных карбоксильных групп. Меченый углерод из углекислоты появился только в карбоксильных группах молекулы лимонной кислоты, причем C^{14} почти равномерно распределяется между первичной и вторичной карбоксильными группами. Таким образом показано, что углекислота усваивается Asp. niger и может быть важным промежуточным продуктом при образовании лимонной кислоты. Авторы приводят схему включения меченой углекислоты вначале в первичную карбоксильную группу, а затем перехода меченого углерода во вторичную карбоксильную группу.

$$C^*O_2 + CH_3COCOOH \rightarrow HOOC^*CH_2COCOOH \quad (1)$$

$$HOOC^*CH_2COCOOH + CH_3COOH \rightarrow$$

$$\rightarrow HOOC^* - CH_2 - \underset{\displaystyle CH_2COOH}{\overset{\displaystyle OH}{\overset{|}{\underset{|}{C}}}} - COOH \qquad (2)$$

$$HOOC^*CH_2COCOOH \underset{}{\overset{+2H-H_2O}{\rightleftharpoons}} HOOC^*CH = CHCOOH \qquad (3)$$

$$HOOC^*CH = CHCOOH \underset{-2H}{\overset{+H_2O}{\rightleftharpoons}} HOOCCH_2COC^*COOH \qquad (4)$$

$$HOOCCH_2COC^*OOH + CH_3COOH \rightarrow HOOCCH_2 - \underset{\displaystyle CH_2COOH}{\overset{|}{\underset{|}{C}}} - C^*OOH \qquad (5)$$

Л. Осницкая

A. Grosser und K. Bernstein. **Beiträge zur mikrobiologischen Eiweiss- und Fettsynthese. 4. Über die Anreicherung von Eiweiss in Cellulose mittels Pilzen. (О микробиологическом синтезе белков и жиров. 4. О накоплении белка в целлюлозе с с помощью грибов).** Bioch. Z., Bd. 320, S. 162—174, 1950.

Известно, что многочисленные плесневые грибы способны разрушать целлюлозу и использовать продукты разрушения ее для построения своего тела. Представлялось интересным выяснить, возможно ли накопление белка в целлюлозосодержащем субстрате в процессе развития плесневых грибов. С этой целью были подобраны грибы, которые не только быстро и хорошо вообще росли на целлюлозе, но также могли бы хорошо расти в погруженной культуре, что во много раз увеличивало скорость разрушения целлюлозы. Наилучшие результаты показали следующие представители Penicillium: 1) P. aureo-limbum Zaleskii, 2) P. purpurogenum Feeroff — Stoll, 3) P. roseo-purpureum Direck, 4) P. janthocitrinum Biourge, 5) P. gilvum Sopp.

Работа проводилась на солевой среде (K_2HPO_4 — 0,05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,025%) с добавлением различных источников азота — 0,1% $(NH_4)_2SO_4$, 0,128% $NaNO_3$ или 0,045% мочевины. Целлюлоза добавлялась обычно в виде хорошо размельченной ваты в количестве 1%. Опыты проводились в качалке при 26°. По окончании опыта смесь мицелия с целлюлозой отделялась фильтрованием и высушивалась до постоянного веса. В ней определялся азот. В фильтрате определялись pH, редуцирующие вещества, общая кислотность. В результате проведенных опытов оказалось, что перечисленные выше плесневые грибы на суспензии целлюлозы в погруженной культуре дают значительное накопление белкового азота. Так при благоприятных условиях в физиологически кислой питательной среде за 6 дней из 100 частей целлюлозы образуется в среднем 75—80 частей смеси мицелия с целлюлозными остатками, которая содержит примерно 1,5% азота. Если вместо целлюлозы дать грибу глюкозу, то из 100 частей глюкозы образуются 32 части мицелия с содержанием азота около 4,75%.

Исследовалось стимулирующее действие на процесс накопления белкового азота различных тяжелых металлов (Zn, Al, Cu, Fe), наиболее эффективным оказался технический Zn, при добавлении которого в виде пластинок, гранул или зернышек из 100 частей целлюлозы образовывалось 50—40 частей смеси мицелия с остатками целлюлозы с содержанием азота 3—4%. Это объясняется, вероятно, активирующим действием на целлюлозу следов тяжелых металлов, загрязняющих технический Zn.

С помощью плесневых грибов Penicillium, быстро растущих в погруженной культуре на суспензии целлюлозы, за 5—6 дней можно получить белка до 25% (из расчета на сырой протеин) и на глюкозе до 30%.

Л. Осницкая

Thaylor C. B. **An improved method for the preparation of silica gel media for microbiological purposes. (Усовершенствованный метод приготовления кремниевого геля для микробиологических целей).** J. Gen. Microb., v. 4, pp. 235—238, 1950.

В настоящей работе предлагается более совершенный по сравнению с существующими метод приготовления кремниевого геля. Кремниевый гель получается удалением катиона путем фильтрования раствора Na_2SiO_3 через ионообменную колонку, конструкция которой аналогична конструкции хроматографической колонки. Ионообменная колонка наполняется катионитом — веществом, обменивающим катионы фильт-

руемой через него жидкости на ионы водорода. Растворы солей при фильтровании через слой катионита превращаются в растворы соответствующих кислот.

При фильтровании раствора N_2SiO_3 через ионообменную колонку получается кислый кремниевый золь (раствор H_2SiO_3), который имеет длительный период застывания (до 7 дней) и может стерилизоваться в автоклаве. Стерилизованный жидкий золь смешивается с рассчитанным количеством стерильной щелочи и с определенным объемом стерильной среды. Полученная смесь разливается в чашки Петри и пробирки. Застывание наступает через 1—2 часа после смешивания.

Испытания полученных таким образом сред дали хорошие результаты при посеве на них разнообразных микроорганизмов.

Ю. Сорокин

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

А. И. Метелкин. **Зеленая плесень и пенициллин. История открытия, изучения и применения лечебных свойств плесени.** Медгиз, 1949, стр. 106.

Вряд ли есть в настоящее время необходимость доказывать преимущества столь широко известного лечебного средства, как пенициллин. Пенициллин ныне выступает как могучий антибиотик для лечения многих еще совсем недавно гибельных заболеваний. Это лекарственное вещество, широко применяемое в практике, вместе с тем явилось как бы «знаменосцем» целой плеяды антибиотиков, помогающих нашей медицине ликвидировать тяжкие заболевания.

О всех этих успехах в применении лекарственных веществ бактериального происхождения мы слушаем и читаем с тем бо́льшим удовлетворением, что их родиной является наша страна, а создателями русские ученые, имена которых золотыми буквами вписаны в историю мировой медицины и микробиологии. Эти вещества микробного происхождения неминуемо должны были привлечь внимание пытливых исследователей.

Такими именно пытливыми наблюдателями и были русские ученые, впервые внимательно присматривавшиеся к действию плесени на бактерий. История развития этого вопроса, приведшая к созданию пенициллина, представляет выдающийся интерес, и появление исследований, посвященных этой теме, надо, разумеется, приветствовать.

Перед нами одна из таких работ. Ее автор — проф. А. И. Метелкин,— надо отдать ему справедливость,— собрал богатый материал по истории открытия, изучения и применения в качестве лечебного средства плесени. Не свободная от досадных недочетов и ошибок, книга А. И. Метелкина служит тем не менее интересам отечественной науки, показывая и доказывая конкретными фактами ее приоритет в этой важной области.

Мы с немалым интересом читаем о том, как шаг за шагом наши ученые, находясь в авангарде мировой науки, раскрывали перед человечеством сокровенные тайны природы, чтобы поставить их на службу человечеству. Эта воистину гуманная деятельность вызывает гордость за родную науку у каждого читателя. В книге с исчерпывающей полнотой раскрываются замечательные открытия И. И. Мечникова, роль которого в развитии биологической науки все шире и глубже познается в наши дни. «Следовательно,— говорится в книге А. И. Метелкина,— нет сомнений, что работы Мечникова и его школы были основным, краеугольным камнем в учении об антагонизме микробов, так широко практически используемом в настоящее время. И если до Мечникова многие исследователи, как уже говорилось, занимались разрешением проблемы антагонизма микробов и даже пытались найти этому биологическому явлению надлежащее применение, то лишь труды Мечникова дали возможность свести все эти разрозненные, а нередко мало убедительные наблюдения в отдельную, научно-обоснованную область современной науки о микроорганизмах». Нельзя не согласиться с Метелкиным, что именно Мечников и его открытия вдохнули новое содержание в проблему и «указали новые формы практического применения получаемых наукой результатов».

Приходится сожалеть, что проф. Метелкин только мимоходом отмечает работы того, кого он сам называет «патриархом русской бактериологии»,— почетного академика Николая Федоровича Гамалея. Автор рецензируемой работы считает вполне достаточным сказать об этом ученом, что он «уделил не мало места в своих чрезвычайно разнообразных многолетних трудах» выяснению антагонизма микробов с целью использовать полученные данные для борьбы с инфекциями. Конечно, только теперь выдающиеся открытия Н. Ф. Гамалея начинают получать должную оценку. Но тем не менее у проф. Метелкина было достаточно материалов, чтобы уделить Н. Ф. Гамалея значительно больше внимания. Следовало, в частности, указать, что Н. Ф. Гамалея еще в 1886 г. был инициатором применения убитых культур так называемой «чудесной палочки» Bact. prodigiosum для лечения раковых опухолей женских половых органов. Одесский врач Ракуза впрыскивал больной, которую уже невозможно было оперировать, приготовленную Н. Ф. Гамалея культуру. А разве не заслуживали упоминания и другие работы Н. Ф. Гамалея в области создания антибиотических средств, как, например, важные опыты с бактериолизинами?

Вот, что писал сам Н. Ф. Гамалея по этому поводу:

«Во-первых, бактериолизины, разрушая бактерий в пробирках, освобождают заключенные в последних токсины и могут потому служить для изучения бактерийных ядов.

Во-вторых, будучи введены одновременно с бактериями в животный организм и освобождая внутри него токсины, бактериолизины могут дать новый метод вакцинации (подчеркнуто мной.— *И. Г.*).

В-третьих, наконец, действуя на бактерий, инфицирующих организм, и разрушая их бактериолизины, могут быть применены для лечения инфекционных болезней».

Эти работы Н. Ф. Гамалея, к сожалению, в России прошли не замеченными, их подхватили немецкие ученые и широко использовали в своих трудах. Тем более надлежало А. И. Метелкину вспомнить об этих трудах Гамалея. Ради этого стоило потратить время для прочтения хотя бы библиографии сочинений Н. Ф. Гамалея.

В конце книги А. И. Метелкина имеется достаточно обширный список литературы, посвященной теме, о которой он пишет. При всей его значительности в нем недостает существенных источников. А. И. Метелкину, вероятно, известна замечательная переписка между Н. Ф. Гамалея и И. И. Мечниковым. В одном из писем за 1886 г. Н. Ф. Гамалея писал И. И. Мечникову о том, как Пастер узнал о фагоцитарной теории Мечникова. Кстати заметим, что такой книги, как «Воспоминания», И. И. Мечников не издавал, он не оставил после себя систематических мемуаров. Речь, повидимому, идет о книге «Страницы воспоминаний» (сборник автобиографических статей И. И. Мечникова), составленный А. Е. Гайсиновичем и изданной Академией Наук СССР в 1946 г.

На стр. 10 и 11 А. И. Метелкин неправильно лишает Н. Ф. Гамалея приоритета в области использования препаратов из палочки синего гноя. Вовсе не работы проф. Деркача с сотрудниками (1945) «дают достаточно оснований для внедрения в терапевтическую практику пиоцианина, полученного из культур той же бактерии». Еще в 1922 г. Н. Ф. Гамалея из палочки синего гноя был добыт пиокластин, разрушавший ряд бактерий. Эта работа явилась продолжением тех исследований, которые велись этим выдающимся ученым, начиная с 1886 г.

Не упомянута работа ближайшего сотрудника Н. Ф. Гамалея М. А. Щегловой, которая, по заданию Н. Ф. Гамалея, приготовила в 1923 г. препарат пиокластин, пользуясь несколько видоизмененной методикой.

Кроме того, ею выделен гонокластин из гонококков, оказавшийся таким же действенным, как и пиокластин. В этой работе Щеглова сообщила о проведенных в петроградском оспопрививательном институте (директор Н .Ф. Гамалея) в 1923—1924 гг. опытах, которые показали, что под влиянием упомянутых препаратов происходило разрушение гонококков, стрептококков, стафилококков и палочек кишечной группы.

Это свойство пиокластина было использовано М. А. Щегловой при лечении гоноррейных заболеваний и при коли-бациллярных процессах. Работа опубликована в «Практической медицине», № 8 за 1925 г. Неупоминание Метелкиным о приоритете Н. Ф. Гамалея и М. А. Щегловой тем более странно, что проф. Дергач в своей статье, опубликованной в 1945 г. во «Врачебном деле» (№ 7—8), сообщая о своих исследованиях с антибиотиком — пиоцианином и санозином, признал (Врачебное дело, № 12, 1949), что приоритет этого открытия принадлежит Н. Ф. Гамалея и М. А. Щегловой, открывшим и доказавшим антибиотическое значение пиокластина, добытого из палочки синего гноя. Сообщение об этом могло обогатить книгу А. И. Метелкина.

Проф. Метелкин справедливо отмечает достижения Л. А. Зильбера и Л. М. Якобсон, открывших в 1946 г. новый «тип антибиотика, образуемого эритроцитами крови людей и животных».

«Этот препарат,— читаем мы,— по словам названных авторов (т. е. Л. А. Зильбера и Л. М. Якобсон.— *И. Г.*) оказывает особенно сильное антибактериальное действие на возбудителя дифтерии и подавляет вызываемые ими в организме патологические проявления».

Однако, наряду с этим, проф. Метелкин не приводит очень интересных исследований по вопросу о дифтерийном иммунитете, проведенных Б. И. Збарским (1925). Этот исследователь нашел, что продукты распада белков — аминокислоты, поступая в кровь, адсорбируются красными кровяными шариками. То же происходит и с дифтерийным токсином. По опытам Збарского эритроциты имеют отношение к восприимчивости к дифтерии. На такую же связь указывают и те наблюдения, которые обнаруживают неодинаковую восприимчивость у людей с различными типами красных кровяных шариков. У невосприимчивых животных клетки тканей, так же как и эритроциты, не адсорбируют токсин, который поэтому их не отравляет.

Собрав в своей книге ценный фактический материал, А. И. Метелкин оказался, однако, в плену объективизма. Рассказывая о том, с какими затруднениями рождался пенициллин в Англии, проф. Метелкин обязан был подчеркнуть зависимое положение науки в буржуазных странах, где она является служанкой капиталистов. Проф. Метелкину следовало бы рассказать о том, какая шла спекуляция пенициллином в дни войны, как вымогалось золото за лекарство, которое должно было облегчить страдания тех, кто на полях сражений отстаивал свободу человечества.

Книга издана небольшим, всего пятитысячным тиражом. Об этом пришлось бы пожалеть, если бы не существенные недостатки, о которых говорилось выше. Однако все недостатки, имеющиеся в книге, могут быть устранены, и новое издание работы проф. Метелкина, несомненно, окажется весьма полезным. В этом случае мы пожелали бы автору учесть выдающиеся работы О. Б. Лепешинской, а также исследования Г. М. Бошьяна и др. Издательству же следует удешевить книгу. Книги подобного рода надо выпускать большими тиражами, а это, кстати говоря,— путь к снижению их стоимости.

И. Грязнов

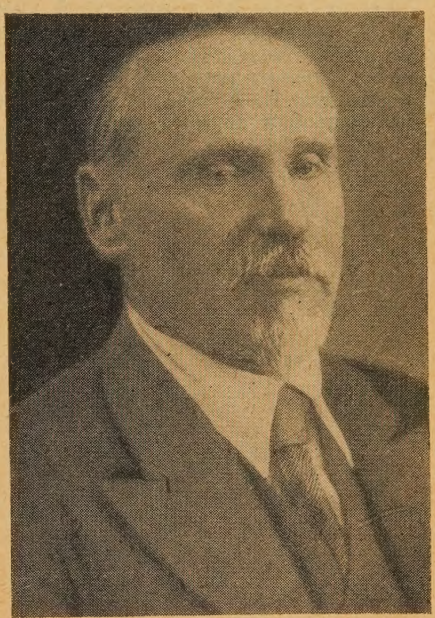
ХРОНИКА

АНТОН ФЕЛИКСОВИЧ ВОЙТКЕВИЧ

23 декабря 1950 г. скончался в 75-летнем возрасте доктор сельскохозяйственных наук, профессор Антон Феликсович Войткевич, крупнейший микробиолог Советского Союза и член редколлегии журнала «Микробиология».

Свою научную деятельность Антон Феликсович начал в 1910 г. на Бактериолого-агрономической станции в Москве. Его первые работы касались самых различных разделов микробиологии. Он работает в области микробиологии почвы, микробиологии воды и молочной микробиологии, изучает патогенных для грызунов бактерий и т. д.

В 1918 г. Антон Феликсович становится директором Бактериолого-агрономической станции и все свои силы отдает организации ее работы.



К 1929 г., ко времени превращения этого учреждения в Московское отделение Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии, Бактериолого-агрономическая станция под руководством Антона Феликсовича уже приобретает не только всесоюзную, но и мировую известность.

Антон Феликсович умело оборудует научные лаборатории, подбирает кадры, направляет всю работу Московского отделения. Будучи директором, Антон Феликсович проявил себя и как ученый и как человек; он знает и понимает каждого сотрудника, знает и его нужды и его потребности. Обладая исключительной скромностью, Антон Феликсович как-то незаметно умел помочь каждому найти самого себя, организовать работу, устроить личную жизнь.

Сам Антон Феликсович посвящает себя работе в области микробиологии молока. Нет такого вопроса в этой отрасли науки, куда не внес бы Антон Феликсович свой ценный вклд.

Он изучает физиологию молочнокислых бактерий, процессы, протекающие при изготовлении кисломолочных продуктов: простокваши, кефира, кумыса, и не только изучает, но активно вникает в производство, реорганизует технологию производства.

Он впервые в СССР организует производства заквасок для маслоделия и сыроделия и перестраивает эти отрасли молочного производства на новых началах.

Он организует изучение и борьбу с плесневением экспортного масла, изучает процессы созревания сыров и дает реальное средство для борьбы с их выпучиванием; изучает и корректирует процесс изготовления плавленого сыра.

Не менее ценные вклады вносит Антон Феликсович в понимание процессов, связанных с первичной обработкой молока. Он показывает пути дезинфекции доильных машин, пути получения гарантированного молока, основанные на создании условий пользования бактерицидными свойствами самого молока, дает приемы сохранения молока при транспортировке и т. д.

Последние годы своей жизни Антон Феликсович посвятил изучению ацидофильных бактерий. Предложенные им приемы применения ацидофилина в животноводстве имеют в настоящее время широкое применение в социалистическом животноводстве.

За свою жизнь Антон Феликсович выполнил и опубликовал свыше 47 научных работ.

Антон Феликсович не ограничивался только научной работой. С 1918 г. он заведует кафедрами микробиологии молока в различных вузах. Сотни и тысячи его учеников работают в настоящее время и в научных учреждениях и в молочной промыш-

ленности СССР. Изданы несколько прекрасных учебников и учебных пособий по микробиологии молока и молочных продуктов.

В лице Антона Феликсовича страна потеряла не только большого человека, крупнейшего ученого, но и производственника, педагога, крупнейшего талантливого организатора.

Но дело, начатое Антоном Феликсовичем, с его смертью не остановится; его продолжают тысячи его учеников, развивая сельскохозяйственную микробиологию на основе достижений передовой советской науки и социалистического сельского хозяйства.

К. И. Рудаков

ИВАН АЛЕКСЕЕВИЧ МАКРИНОВ

12 октября 1949 г. умер один из старейших микробиологов нашей Родины, ученик В. Л. Омелянского, член Ленинградского филиала Общества микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов Иван Алексеевич Макринов.

И. А. Макринов родился в 1874 г. в Орловской губернии.

И. А. Макринов первый из наших отечественных микробиологов начал разработку приемов использования культуры азотобактера для повышения урожая сельскохозяйственных культур на торфяных почвах. Большое теоретическое и практическое значение имеют его работы по изучению взаимоотношения азотобактера и целлюлозоразрушающих бактерий в совместной культуре. Одним из первых в Советском Союзе И. А. Макринов начал исследования по биологической мацерации лубоволокнистых растений. Исследования в этой области позволили ему предложить аэробный способ мочки лубяных растений, который в настоящее время приобретает большое значение в практике И. А. Макринов является автором монографий по микробиологии молока, мочки льна и другим вопросам.

М. М. Макарова

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Памяти великого труженика и организатора науки Сергея Ивановича Вавилова . I

От редакции 89

А. Е. Крисс, Е. А. Рукина и В. И. Бирюзова. Судьба мертвого органического вещества в Черном море 90

А. А. Егорова. Микробиологические исследования озера Беловодь 103

И. А. Геллер и Е. Г. Харитон. Азотобактер в почве травопольного севооборота 113

Ядв. Стржемская. Образование микоризы у хлебных злаков 120

Н. В. Крупин. Влияние грамицидина С на морфологию и физиологию микробов. IV. Влияние грамицидина С на гемолитическую функцию стафилококков и картофельной палочки 122

Е. В. Рунов. Бактериофаг в сыроделии. III. Лизирующее начало молочнокислых палочек 126

А. Л. Бычковская. Аэробные кислоторазрушающие микроорганизмы льняной мочильной жидкости 135

Л. И. Комарова. Влияние твердых частиц, перемешивания и температуры на спиртовое брожение 140

Л. Е. Хунданов. Описание дрожжей из курунги 150

И. В. Жукова. Об условиях заражения озимой ржи грибом Urocystis occulta (Wallroth) Rabenhorst 152

В. И. Кудрявцев. О непрерывной селекции микроорганизмов из производства 155

М. П. Корсакова. Академик С. П. Костычев 168

Рефераты 183

Критика и библиография 189

Хроника 191

Т-00171 Подписано к печати 21/III 1951 г. Печ. л. 9,24+5 вклеек

Уч.-изд. л. 10,9. Формат бум. 70×108 1/16. Бум. л. 3 3/8. Тираж 5025 Заказ 919

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

КОНТОРА „АКАДЕМКНИГА"

Москва, Б. Черкасский пер., 2

ИМЕЮТСЯ В ПРОДАЖЕ КНИГИ ПО МИКРОБИОЛОГИИ:

Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. (Серия „Итоги и проблемы современной науки"). 1949. 165 стр. Ц. 7 руб.

Красильников Н. А. Актиномицеты — антагонисты и антибиотические вещества. (Серия „Итоги и проблемы современной науки"). 1950. 303 стр. Ц. 15 руб.

Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. (Институт микробиологии). 1949. 829 стр. Ц. 65 руб. в переплете.

Мишустин Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. (Институт микробиологии). 1950. 391 стр. Ц. 21 р. 50 к.

Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. 1949. 249. стр. Ц. 15 р. 50 к.

Таусон В. О. Наследство микробов. (Научно-популярная серия). 1947. 146 стр. Ц. 6 руб.

КНИГИ ПРОДАЮТСЯ В МАГАЗИНАХ „АКАДЕМКНИГА":

Москва, ул. Горького, 6; Ленинград, Литейный проспект, 53-а;
Свердловск, ул. Белинского, 71-в; Ташкент, ул. Карла Маркса, 29;
Киев, ул. Ленина, 42; Алма-Ата, ул. Фурманова, 129;
Харьков, Горяиновский пер., 4/6.

Иногородние заказы выполняются наложенным платежом.

С заказами обращаться:

Москва, Большой Черкасский пер., 2, Контора „Академкнига"